Pratique en gynécologie-obstétrique



Sous l'égide du CNGOF

Infertilité

Prise en charge globale et thérapeutique



Sous la direction de

René Frydman



Infertilité

Prise en charge globale et thérapeutique

Chez le même éditeur

Dans la même collection

Guide pratique de l'échographie obstétricale et gynécologique, par G. Grangé, 2e édition. 2016. 416 pages.
Surveillance fœtale pendant le travail, par C. Vayssière, O. Parant. 2016. 288 pages.
Pathologies maternelles et grossesse, par A. Benachi, D. Luton, L. Mandelbrot, O. Picone. 2014. 488 pages.
Cancers gynécologiques pelviens, par X. Carcopino, J. Levêque, D. Riethmuller. 2013. 460 pages.
La contraception en pratique, par B. Raccah-tebeka, G. Plu-Bureau. 2013. 272 pages.
Manuel de sexologie, par P. Lopès, F.-X. Poudat, 2e édition. 2013. 376 pages.
Echocardiographie fœtale, par F. Boussion, P. Pézard. 2013. 464 pages.
Conduites pratiques en médecine fœtale, coordonné par A. Benachi, 2e édition. 2013. 368 pages.
La colposcopie, par J. Marchetta, P. Descamps, 3e édition. 2012. 184 pages.
Le retard de croissance intra-utérin, par V. Tsatsaris. 2012. 320 pages.
Médicaments et grossesse. Prescrire et évaluer le risque, coordonné par A.-P. Jonville-Bera, T. Vial. 2012. 296 pages.
Endocrinologie en gynécologie et obstétrique, coordonné par B. Letombe, S. Catteau-Jonard, G. Robin. 2012. 296 pages.
Maladies du sein, coordonné par H. Mignotte, 2e édition. 2011. 216 pages.

Autres ouvrages

105 fiches pour le suivi post-natal mère-enfant, par A. Battut, T. Harvey, P. Lapillonne. 2015. 344 pages.
Chirurgie en obstétrique, par P. Deruelle, G. Kayem, L. Sentilhes. 2015. 168 pages.
Chirurgie des cancers gynécologiques, par D. Querleu, E. Leblanc, P. Morice, G. Ferron, 2e édition. 2014. 216 pages.
Obstétrique, par J. Lansac, G. Magnin, L. Senthiles, 6e édition, collection « Pour le praticien ». 2013. 584 pages.
Gynécologie, par J. Lansac, P. Lecomte, 8e édition, collection « Pour le praticien ». 2014. 592 pages.
La pratique de l'accouchement, coordonné par J. Lansac, P. Descamps, J.-F. Oury (compléments vidéos), 5e édition. 2011. 624 pages.
La pratique chirurgicale en gynécologie et obstétrique, coordonné par J. Lansac, G. Body, G. Magnin (compléments vidéo), 3e édition. 2011. 560 pages.
Le diagnostic prénatal en pratique, L. Sentilhes, D. Bonneau, P. Descamps. 2011. 528 pages.
Traité d'obstétrique, coordonné par L. Marpeau, avec la collaboration du Collège national des sages-femmes et de l'Association française des sages-femmes enseignantes. 2010. 700 pages.

Sous l'égide du Collège national
des gynécologues et obstétriciens français

C N G O F

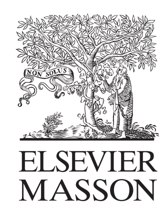
Conseillers éditoriaux :
Philippe Descamps, François Goffinet, Brigitte Raccah-Tebeka

Infertilité

Prise en charge globale et thérapeutique

Sous la direction de

René Frydman



ELSEVIER
MASSON



Les figures 2.2, 2.3, 3.6, 5.2a, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 21.1 et 48.1 ont été réalisées par Carole Fumat.

ISBN : 978-2-294-74590-4
e-ISBN : 978-2-294-74654-3

Elsevier Masson SAS, 62, rue Camille-Desmoulins, 92442 Issy-les-Moulineaux cedex
www.elsevier-masson.fr

Liste des collaborateurs

Nelly Achour-Frydman, unité fonctionnelle de biologie de la reproduction, hôpital Antoine-Béclère, université Paris Sud Clamart.

Naouel Ahdad-Yata, service de gynécologie obstétrique et médecine de la reproduction, hôpital Antoine-Béclère, université Paris Sud, Clamart.

Laura Alter, centre hospitalier intercommunal Poissy–Saint-Germain-en-Laye, service histologie-embryologie, biologie de la reproduction, cytogénétique et génétique médicale, Poissy.

Silvia Alvarez, médecin de la reproduction, Centre FIV, clinique de la Muette, Paris.

Aurélie Amar Hoffet, médecin, responsable de l'unité de médecine de la reproduction, hôpital Saint-Joseph, Marseille.

Jean-Marie Antoine, professeur des universités, praticien hospitalier, service de gynécologie obstétrique et médecine de la reproduction, hôpital Tenon, Paris.

Paul Atlan, médecin, service de gynécologie-obstétrique et médecine et biologie de la reproduction, hôpital Foch, Suresnes.

Catherine Avril, médecin, service d'AMP, clinique Mathilde, Rouen.

Jean-Marc Ayoubi, service d'AMP Foch-Neuilly-Sur-Seine.

Paul Barrière, professeur des universités, praticien hospitalier, service médecine et biologie de la reproduction, CHU de Nantes.

Joëlle Belaisch-Allart, centre hospitalier des 4 villes, Saint-Cloud.

Naima Belhadrie-Mansouri, service de médecine et biologie de la reproduction, cytogénétique et CECOS de Picardie, centre de biologie médicale, CHU Sud, Amiens.

Achraf Benammar, service de biologie de la reproduction, hôpital Bichat, université Paris Diderot, PRES Sorbonne Paris Cité.

Moncef Benkhalifa, service de médecine et biologie de la reproduction, cytogénétique et CECOS de Picardie, centre de biologie médicale, CHU Sud Amiens.

Marianne Bergere, centre hospitalier intercommunal Poissy–Saint-Germain-en-Laye, service histologie-embryologie, biologie de la reproduction, cytogénétique et génétique médicale Poissy.

Lucile Boistot, service de biologie de la reproduction, hôpital Bichat, université Paris Diderot, PRES Sorbonne Paris Cité.

Florence Boitrelle, centre hospitalier intercommunal Poissy–Saint-Germain-en-Laye, service histologie-embryologie, biologie de la reproduction, cytogénétique et génétique médicale, Poissy.

Philippe Bouchard, service de gynécologie obstétrique et gynécologie, hôpital Foch, Suresnes.

Mathilde Bourdon, MD, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, faculté de médecine, AP-HP, hôpital universitaire Paris Centre (HUPC), groupe hospitalier universitaire Cochin, service de gynécologie obstétrique II et médecine de la reproduction Paris.

Pierre Boyer, service de médecine et biologie de la reproduction, hôpital Saint-Joseph, Marseille.

Florence Brugnon, Responsable UF AMP, MCU-PH, CECOS Auvergne, Clermont-Ferrand.

Perrine Capmas, AP-HP, CHU Bicêtre, service de gynécologie-obstétrique, INSERM U1018 « Reproduction et développement de l'enfant », Le Kremlin-Bicêtre.

Aurore Catteau, AHU, service médecine et biologie de la reproduction, CHU de Nantes.

Charles Chapron, MD, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, faculté de médecine, AP-HP, hôpital universitaire Paris Centre (HUPC) : groupe hospitalier universitaire Cochin, service de gynécologie obstétrique II et médecine de la reproduction, Paris ; laboratoire d'immunologie,

EA 1833, Paris, Inserm, unité de recherche U1016, Institut Cochin, CNRS (UMR8104), Paris.

Candice Chauffour, pôle gynécologie, obstétrique, reproduction humaine, CHU Estaing Clermont-Ferrand.

Noémie Celton, service de médecine et biologie de la reproduction, cytogénétique et CECOS de Picardie, centre de biologie médicale, CHU Sud, Amiens.

Henri Copin, service de médecine et biologie de la reproduction, cytogénétique et CECOS de Picardie, centre de biologie médicale, CHU Sud, Amiens.

Christine Decanter, médecin de la reproduction, hôpital Jeanne de Flandre, Lille.

Lydie Dejou-Bouillet, pôle gynécologie, obstétrique, reproduction humaine, CHU Estaing Clermont-Ferrand.

Sophie Deutsch-Bringer, département de gynécologie-obstétrique, faculté de médecine Montpellier-Nîmes, hôpital universitaire A. de Villeneuve, Montpellier 5, unité de médecine de la reproduction.

Aviva Devaux, service de médecine et biologie de la reproduction, cytogénétique et CECOS de Picardie, centre de biologie médicale, CHU Sud, Amiens.

Didier Dewailly, service de gynécologie endocrinienne et médecine de la reproduction, hôpital Jeanne-de-Flandre, centre hospitalier de Lille.

Catherine Dolto, pédiatre haptothérapeute, Paris.

Martine Dumont, doctorat de spécialité biologie et physiologie animale, biologiste, Selas Labomaine, centre d'AMP du Tertre Rouge Le Mans.

Solène Duros, service de gynécologie, hôpital sud, CHU de Rennes.

Sylvie Epelboin, centre d'assistance médicale à la procréation, service de gynécologie obstétrique et médecine de la reproduction, groupe hospitalier Bichat–Claude Bernard, hôpitaux universitaires Paris Nord Val-de-Seine, Paris.

Renato Fanchin, Professeur des universités, médecin de la reproduction, hôpital Antoine Béclère, Clamart.

Stéphanie Fay, praticien hospitalier, centre d'AMP Foch-Neuilly-Sur-Seine.

Hervé Fernandez, AP-HP, CHU Bicêtre, service de gynécologie-obstétrique, université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, INSERM U1018 « Reproduction et développement de l'enfant », Le Kremlin-Bicêtre.

Xavier Ferraretto, service de biologie de la reproduction, hôpital Bichat, université Paris Diderot, PRES Sorbonne Paris Cité.

Caterina Ferretti, échographiste, centre diagnostic de la fertilité, Paris 17e, praticien attaché au service de PMA hôpital Port-Royal.

Muriel Flis-Trèves, psychiatre psychanalyste, hôpital Foch et hôpital Necker, Paris.

René Frydman, l'Émérite médecin de la reproduction, hôpital Foch, Suresnes.

Vanessa Gayet, MD, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, faculté de médecine, AP-HP, hôpital universitaire Paris Centre (HUPC), groupe hospitalier universitaire Cochin, service de gynécologie obstétrique II et médecine de la reproduction, Paris, France.

Marie Gervoise-Boyer, service de médecine et biologie de la reproduction, hôpital Saint-Joseph, Marseille.

Claudie Giguère, psychologue, centre hospitalier de l'université de Montréal, clinique de procréation assistée, Montréal, Québec.

Anne-Sophie Gremeau, pôle gynécologie, obstétrique, reproduction humaine, CHU Estaing Clermont-Ferrand.

Héloïse Gronier, service de médecine de la reproduction, hôpital Jean Verdier – Bondy 93. 143, université Paris XIII.

Michaël Grynberg, Professeur des universités, service de médecine et biologie de la reproduction, hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy.

Camille Grysole, service de gynécologie endocrinienne et médecine de la reproduction, hôpital Jeanne-de-Flandre, centre hospitalier de Lille.

Jean-François Guérin, professeur des universités, praticien hospitalier, service de médecine de la reproduction, hôpital Femme Mère Enfant, Bron.

Samir Hamamah, Institut de médecine régénératrice et de biothérapie, hôpital Saint-Eloi, CHU de Montpellier, ART/PGD Division, département de biologie de la reproduction, hôpital Arnaud-de-

Villeneuve, Montpellier, INSERM U1203, hôpital Saint-Eloi, Montpellier, université Montpellier 1, UFR de médecine, équipe « Développement embryonnaire précoce humain et pluripotence » Montpellier.

Delphine Haouzi, Institut de médecine régénératrice et de biothérapie, hôpital Saint-Eloi, Montpellier, France, INSERM U1203, hôpital Saint-Eloi, CHU de Montpellier, université Montpellier 1, UFR de médecine, équipe « Développement embryonnaire précoce humain et pluripotence », Montpellier.

Bernard Hédon, département de gynécologie-obstétrique, faculté de médecine Montpellier-Nîmes, hôpital universitaire Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier 5, unité de médecine de la reproduction.

Laetitia Hesters, unité fonctionnelle de biologie de la reproduction, hôpital Antoine-Béclère, Université Paris Sud, Clamart.

Jean-Noël Hugues, professeur de biologie et médecine du développement et de la reproduction, ex-chef de service de médecine de la reproduction, AP-HP, hôpital Jean-Verdier, Bondy.

Vincent Izard, service d'urologie et d'andrologie, hôpital Bicêtre AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre.

Laurent Janny, pôle gynécologie, obstétrique, reproduction humaine, CHU Estaing Clermont-Ferrand.

Isaac-Jacques Kadoch, professeur agrégé de clinique, centre hospitalier de l'université de Montréal, clinique de procréation assistée, Montréal, Québec.

Léa Karpel, psychologue clinicienne, hôpital Foch, Suresnes.

Anne Le Bras-Mayeur, unité fonctionnelle de biologie de la reproduction, hôpital Antoine-Béclère, université Paris Sud, Clamart.

Nathalie Lédée, MD PhD, MatriceLab Innove, hôpital Saint-Louis, UMRS-976, Paris, centre de PMA de l'hôpital des Bleuets, Paris.

Mathilde Lemoine, service de biologie de la reproduction, hôpital Bichat, université Paris Diderot, PRES Sorbonne Paris Cité.

Hélène Letur, praticien hospitalier, service de biologie de la reproduction, AP-HP Tenon, Paris, médecin adjoint, centre de fertilité, Institut mutualiste Montsouris, Paris.

Rachel Lévy, MD-PhD, Professeur des universités, chef de service de biologie de la reproduction, hôpital Tenon, Paris.

Marie-Astrid Llabador de Royer, service de biologie de la reproduction, hôpital Bichat, université Paris Diderot, PRES Sorbonne Paris Cité.

Jacqueline Lornage, service de médecine et biologie de la reproduction, hôpital Femme Mère Enfant, Hospices civils de Lyon, Bron.

Vanessa Lubin, médecin de la reproduction, hôpital Saint-Joseph, Marseille.

Louis Marcellin, MD, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, faculté de médecine, AP-HP, hôpital universitaire Paris Centre (HUPC), groupe hospitalier universitaire Cochin, service de gynécologie obstétrique II et médecine de la reproduction, Paris.

Paul Marzouk, MD, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, faculté de médecine, AP-HP, hôpital universitaire Paris Centre (HUPC), groupe hospitalier universitaire Cochin, service de gynécologie obstétrique II et médecine de la reproduction, Paris.

Emmanuelle Mathieu d'Argent, praticien hospitalier, service de gynécologie obstétrique et médecine de la reproduction, hôpital Tenon, Paris.

Marie-Laure Maurin, département de génétique, hôpital Necker-Enfants malades, université Paris Descartes, Paris.

Philippe Merviel, service de gynécologie-obstétrique et médecine de la reproduction, CHRU de Brest.

Stéphanie Mestres, pôle gynécologie, obstétrique, reproduction humaine, CHU Estaing Clermont-Ferrand.

Charlotte Methorst, médecin andrologue chirurgie urologique, attaché au service de gynécologie, hôpital Foch, Suresnes.

Denise Molina-Gomes, centre hospitalier intercommunal Poissy–Saint-Germain-en-Laye, service histologie-embryologie, biologie de la reproduction, cytogénétique et génétique médicale, Poissy.

Jacques Montagut, médecin biologiste, IFREARES, Toulouse.

Debbie Montjean, service de médecine et biologie de la reproduction, hôpital Saint-Joseph, Marseille.

Eric Nataf, Centre d'exploration de la fertilité, Paris.

Pierre Oger, praticien hospitalier, centre d'AMP Foch-Neuilly-Sur-Seine.

François Olivennes, Centre de FIV de La Muette, Paris.

Anne Oppenheimer, médecin de la reproduction, service de procréation médicalement assistée, hôpital Antoine Béclère, Clamart.

Catherine Patrat, service de biologie de la reproduction, hôpital Bichat, université Paris Diderot, PRES Sorbonne Paris Cité.

Sarah Peyrelevade, médecin de la reproduction, centre d'AMP Foch-Neuilly-Sur-Seine.

Olivier Pirrello, MD, praticien hospitalier, pôle de gynécologie obstétrique, Centre d'AMP CHU Strasbourg.

Paul Pirtea, MD, université Paris Descartes, Paris Sorbonne Cité, assistance publique hôpitaux de Paris, CHU Cochin, service de gynécologie obstétrique et médecine de la reproduction, Paris.

Khaled-Razvan Pocate Cheriet, MD, université Paris Descartes, Paris Sorbonne Cité, AP-HP, CHU Cochin, service de biologie de la reproduction, Paris.

Xavier Pollet-Villard, MD, service de biologie de la reproduction, hôpital Tenon, Paris.

Marine Poulain, PharmD, PhD, praticien hospitalier, unité biologique de la reproduction, centre de Neuilly-Foch.

Jean-Luc Pouly, professeur de gynécologie-obstétrique, Université d'Auvergne, CHU de Clermont Ferrand.

Anne-Gaëlle Pourcelot, AP-HP, CHU Bicêtre, service de gynécologie-obstétrique, Université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre.

Romy Rayssiguier, département de gynécologie-obstétrique, faculté de médecine Montpellier-Nîmes, hôpital universitaire A. de Villeneuve, Montpellier 5, unité de médecine maternelle et fœtale.

Catherine Rongieres, MD, PH, pôle de gynécologie obstétrique, Centre d'AMP CHU Strasbourg.

Betty Rossin, médecin de la reproduction, hôpital Saint-Joseph, Marseille.

Bruno Salle, service de médecine et biologie de la reproduction, hôpital Femme Mère Enfant, Hospices civils de Lyon, Bron.

Pietro Santulli, MD, PhD, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, faculté de médecine, AP-HP, hôpital universitaire Paris Centre (HUPC), groupe hospitalier universitaire Cochin, service de gynécologie obstétrique II et médecine de la reproduction, Paris, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, faculté de médecine, AP-HP, hôpital Cochin, laboratoire d'immunologie, EA 1833, Paris, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, faculté de médecine, Inserm, unité de recherche U1016, Institut Cochin, CNRS (UMR8104), Paris.

Elodie Scalici, CHU Montpellier, Institut de médecine régénératrice et de biothérapie, hôpital Saint-Eloi, Montpellier, CHU Montpellier, ART/PGD Division, département de biologie de la reproduction, hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, INSERM U1203, Hôpital Saint-Eloi, Montpellier, Université Montpellier 1, UFR de Médecine, équipe « Développement embryonnaire précoce humain et pluripotence », Montpellier.

Lise Selleret, praticien hospitalier, service de gynécologie obstétrique et médecine de la reproduction, hôpital Tenon, Paris.

Jacqueline Selva, centre hospitalier intercommunal Poissy–Saint-Germain-en-Laye, service histologie-embryologie, biologie de la reproduction, cytogénétique et génétique médicale, Poissy.

Christophe Sifer, service de médecine et biologie de la reproduction, hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy.

Cendrine Siraudin, service de médecine et biologie de la reproduction, hôpital Saint-Joseph, Marseille.

Charlotte Sonigo, service de médecine de la reproduction, hôpital Jean Verdier, Bondy 93. 143, université Paris XIII.

Carole Splingart, PH, service médecine et biologie de la reproduction, CHU de Nantes.

Julie Steffann, département de génétique, hôpital Necker-Enfants malades, université Paris Descartes, Paris.

Charles Tibi, ancien chef du service de gynécologie-obstétrique et reproduction, hôpital américain de Paris.

Antoine Torre, département de gynécologie-obstétrique, faculté de médecine Montpellier-Nîmes, hôpital universitaire A.-de-Villeneuve, Montpellier 5, unité de médecine de la reproduction.

Martine Valière, radiologue, échographiste, centre diagnostic de la fertilité, Paris.

François Vialard, centre hospitalier intercommunal Poissy–Saint-Germain-en-Laye, service histologie-embryologie, biologie de la reproduction, cytogénétique et génétique médicale, Poissy.

Claire Vinolas, service de médecine et biologie de la reproduction, hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy.

Chadi Yazbeck, MD, PhD, gynécologie obstétrique et médecine de la reproduction, hôpital Bichat-Claude-Bernard, Paris.

Dominique de Ziegler, MD, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, faculté de médecine, AP-HP, hôpital universitaire Paris Centre (HUPC), groupe hospitalier universitaire Cochin, service de gynécologie obstétrique II et médecine de la reproduction, Paris.

Préface

Lorsque j'ai sollicité le Professeur René Frydman en qualité de responsable éditorial des éditions Elsevier Masson pour la gynécologie-obstétrique, je savais qu'un livre consacré à l'assistance médicale à la procréation (AMP) publié en 2016 répondrait à un réel besoin d'actualisation des connaissances dans un des domaines de notre spécialité qui a connu le plus d'évolutions depuis 35 ans.

Si sa reconnaissance dans ce domaine est universelle et que sa légitimité était une évidence pour tous, je ne pensais pas que ce livre pourrait atteindre un tel niveau d'exhaustivité tout en restant extraordinairement clair et didactique.

En parfait chef d'orchestre, il a organisé les thématiques et sollicité les plus grands experts français afin de traiter de façon simple et attractive les aspects techniques, mais aussi éthiques, culturels et religieux de l'AMP.

Pour un gynécologue chirurgical non FIV-iste comme moi, la lecture de ce livre a été réellement passionnante.

En effet, et quelle que soit notre orientation professionnelle dans cette spécialité si vaste qu'est la gynécologie-obstétrique, nul ne peut ignorer la réalité sociale qu'est devenue l'AMP.

Peu de gens auraient pensé que Bob Edwards serait couronné par le prix Nobel de médecine quand Louise Brown est née en 1978, et nul n'aurait pu imaginer que 37 ans plus tard, six millions d'enfants auraient vu le jour grâce à cette technique, soit l'équivalent en population de villes comme Toronto, Madrid ou Singapour !

Rappelons qu'en France 20 000 enfants naissent chaque année suite à une prise en charge en AMP, soit trois pour cent des naissances…

Au fil des évolutions technologiques et sociétales, qui incluent la maîtrise de la contraception et le désir de grossesse tardif dans les pays développés, sont apparues de nouvelles problématiques auxquelles le gynécologue ne peut manquer d'être confronté comme la congélation de convenance, les mères porteuses ou l'anonymat des donneurs de gamètes.

La première partie de ce livre permet au lecteur de naviguer entre considérations physiopathologiques (folliculogenèse, réserve ovarienne, spermatogenèse), techniques (échographie, chirurgie), environnementales (perturbateurs endocriniens, toxiques, nutrition) et éthiques avec le remarquable texte de P. Atlan, qui définit l'AMP comme « le désir des médecins d'aider à suppléer les processus parfois défaillants d'une procréation dite naturelle ».

La deuxième partie est plus technique, et va répondre aux attentes de beaucoup de lecteurs : technique de la fécondation *in vitro*, inséminations intra-utérines, protocoles de stimulation ovarienne, stimulation des faibles répondeuses, recueil ovocytaire, transfert embryonnaire, hyperstimulations, soutien de la phase lutéale, prélèvements testiculaires et épididymaires, sans négliger le versant biologique (ICSI, IMSI embryoscopie, culture prolongée, hatching), les

équipements d'un laboratoire et la cryobiologie (congélation des gamètes, des embryons et des tissus germinaux).

La dernière partie enfin répond aux multiples questions ayant émergé de cette fantastique évolution technologique : préservation de la fertilité, diagnostic préconceptionnel, diagnostic pré-implantatoire, maturation *in vitro*, don d'ovocytes, don d'embryons, autoconservation ovocytaire, couples sérodiscordants, mères célibataires ou couples de femmes homosexuelles ayant un projet de grossesse. Les considérations concernant l'avenir de l'AMP sont également développées comme l'amélioration de l'implantation, l'épigénétique et l'infertilité masculine ou l'apport des techniques Omics. Enfin un chapitre pourra éclairer les couples et les médecins sur les grossesses après AMP, et les rassurer sur la santé néonatale des enfants issus de l'AMP.

Il s'agit donc d'un livre extraordinairement riche où chacun trouvera réponse à ses questions, que le lecteur soit en début d'internat, spécialiste confirmé, endocrinologue, biologiste, gynécologue médical, gynécologue chirurgical ou obstétricien.

Bonne lecture !

Pr Philippe Descamps
Chef du Pôle Femme-Mère-Enfant, CHU Angers

La reproduction humaine du médical au sociétal

Nous entrons avec la reproduction humaine dans un domaine qui appartient autant à la médecine qu'à la société dans son ensemble, car nous ne pouvons aborder la reproduction humaine et ses multiples facettes sans évoquer les problèmes éthiques, culturels, religieux extrêmement présents chez tout un chacun.

Le désir d'enfant est chevillé au corps de beaucoup de femmes et d'hommes même si l'on peut vivre heureux sans enfants surtout lorsque cela est une décision volontaire. Mais la stérilité amène souvent des souffrances, un mal-être, d'une telle intensité, que les médecins, les biologistes se sont lancés dans la réparation de ce désir inassouvi le considérant comme partie prenante de la médecine. Rappelons que l'état de santé est un état de bien-être. Il reste que les premiers moments d'une grossesse restent toujours extrêmement mystérieux et que l'annonce de ce qui était invisible et impalpable s'est transformée par la visibilité du tout début de la vie embryonnaire et par la manipulation possible de l'embryon.

Parmi les représentations picturales de l'Annonciation, je préfère celle de Botticelli car elle souligne délicatement le radieux et la crainte qu'il y a dans cet instant où tout bascule. Aujourd'hui avec les progrès de la science, nous avons un peu plus compris comment se faisait un enfant mais nous nous posons encore beaucoup de questions. Au XVIIe siècle, la théorie oviste prédominait, chaque femme depuis Ève ayant accumulé comme dans un jeu de poupées russes tous les humains potentiels passés dans ses ovaires. Puis, lorsque l'on a découvert au microscope l'existence des spermatozoïdes, on a considéré que la femme n'était là que pour faire chauffer la marmite et aider à développer des humains contenus, bien sûr, dans les spermatozoïdes des hommes comme le montrent de nombreux dessins où l'on voit des petits bonhommes dans différentes positions au sein de chaque spermatozoïde. Mais outre les ovules et les spermatozoïdes, de tout temps, quelque chose de mystérieux, que ce soit un Dieu, la force du vent, une bénédiction ou une malédiction, devait permettre à une forme d'énergie vitale de se manifester.

Nous connaissons bien maintenant les étapes de la fécondation *in vitro* telles qu'a pu l'observer Bob Edwards, Prix Nobel de médecine, qui pendant près de 40 ans a étudié la transformation de l'ovule humain : sa croissance, son ovulation, sa rencontre avec le spermatozoïde qui aboutit à la formation de deux noyaux de 23 chromosomes chacun puis, 24 heures plus tard, à 46 chromosomes qui nous constituent en tant qu'humain, le développement au début de quatre cellules jusqu'au stade de morula. Quatre à six jours après la fécondation, alors que la morula effectue sa descente vers l'utérus, elle se transforme en blastocyste. Celui-ci, d'abord libre dans la cavité utérine va s'enchâsser progressivement. Le lien entre les cellules embryonnaires et le corps maternel est établi comme en témoignent les dosages d'*human chorionic gonadotropin* (hCG), hormone sécrétée par l'embryon pour maintenir la sécrétion ovarienne d'œstrogène ou de progestérone qui est absolument nécessaire à cette période pré-embryonnaire pour le déroulement par la suite de l'organogenèse et de la morphogenèse entre la 4e et la 8e semaine après la fécondation.

C'est donc récemment qu'intervient la fécondation *in vitro* : la rencontre à l'extérieur du corps d'un ovule et d'un spermatozoïde, puis son développement embryonnaire en laboratoire qui peut durer de 2 à 5–6 jours, suivi d'un transfert de cet embryon dans la cavité utérine. En France, Charles Thibaut réussissait cette fécondation *in vitro* chez la lapine en même temps que Bob Edwards en Angleterre en 1965, mais seul Bob Edwards et Patrick Septoe se sont attaqués à la fécondation *in vitro* chez l'espèce humaine et c'est

après 13 ans de travail qu'ils ont pu obtenir la naissance de la petite Louise Brown.

La fécondation *in vitro* s'est répandue en France : on l'estime à 20 000 cas chaque année pour 800 000 naissances. Ce chiffre vaut non seulement pour la France mais aussi pour chaque pays du monde même ceux qui ont une natalité galopante : en effet, il n'est pas un pays qui n'ait pas de centre de prise en charge de l'infertilité, car la femme infertile est très souvent rejetée par son mari, par son groupe, par son clan et destinée à une solitude implacable. La stérilité masculine n'est pas toujours reconnue. Le nombre de questions scientifiques qui restent posées dans le domaine de la reproduction humaine est énorme. Pourquoi parmi les milliers de spermatozoïdes, un seul va pénétrer et empêcher le passage des autres ?

Le nombre de questions scientifiques qui restent posées dans le domaine de la reproduction humaine est énorme : pourquoi parmi des milliers de spermatozoïdes, un seul va pénétrer et empêcher le passage des autres ? Pourquoi un ovule va venir chaque mois, alors qu'il est programmé 3 mois auparavant et qu'un phénomène de répression empêche normalement la gestation multiple ? Qu'est-ce qui caractérise un ovule dans son aptitude à être fécondé, à se développer ? Quelle est la place des mitochondries dans cette énergie vitale de chaque ovule fécondé indépendamment de sa normalité chromosomique ? Beaucoup d'autres problèmes sont posés, la boîte noire qu'est la cavité utérine serait-elle en train d'être mieux comprise par les séquences génétiques qui président à la fenêtre d'implantation ?

Quoi qu'il en soit, ce ne sont pas tant les techniques de fécondation *in vitro* qui ont changé la société, mais c'est la société qui change, qui s'empare des techniques de fécondation *in vitro*. En effet, les femmes ont un désir d'enfant beaucoup plus tardif qu'auparavant, la règle étant un premier enfant à 30 ans, l'éventualité d'un remariage, la recomposition des familles, les paternités et maternités de plus en plus élargies. Il faut aussi prendre en compte, les grossesses tardive voire les grossesses ultra-tardives du fait du recours, sans limites physiologiques, au don d'ovules.

Or, ce désir tardif correspond à une chute brutale de la fertilité liée à un dysfonctionnement ovarien qui s'installe peut-être plus précocement qu'auparavant. Nous passons alors du médical au sociétal et compte tenu de cette constatation, pourquoi une femme de 35 ans ne pourrait pas conserver ses propres ovules pour le moment où elle serait plus disponible plutôt que de s'acharner, 5 ans plus tard, avec des échecs répétés de fécondation *in vitro* ? Ceci est autorisé dans de nombreux pays européens et aux États-Unis, mais la loi française qui permet la congélation depuis 2011 ne l'autorise pas par simple choix de la femme. Si bien que nous sommes dans un domaine de plus en plus confronté au problème de temps. L'utérus, lui, n'a pas d'âge, les femmes de 60 à 65 ans peuvent être enceintes à partir du moment où on leur remet un embryon d'une femme jeune, telle est la preuve apportée par les greffes d'utérus souvent de femmes de 50 à 60 ans ou les dons d'ovocytes qui montrent un bon fonctionnement de cet organe, décidément hors temps.

Les questions de société abordées parfois avec passion, parfois avec conviction se multiplient : est-ce qu'une femme seule, un couple de femmes homosexuelles peuvent avoir accès aux banques de spermatozoïdes ? Le don de sperme ou d'ovules doit-il rester dans l'anonymat et la gratuité tel qu'il a été conçu par ses initiateurs il y a 40 ans ou faut-il s'appuyer sur d'autres modèles, comme en Angleterre où la recherche de l'origine est autorisée pour l'enfant né d'un don de gamètes et ayant atteint les 18 ans, puisque tous les donneurs et donneuses ont accepté le principe d'être identifiés à la demande de l'enfant ? Ce semi-anonymat ne mérite-t-il pas réflexion plutôt que l'imposition de l'anonymat pour tous, ou, à l'inverse, le non-anonymat pour tous ?

Il faut également souligner le problème des mères porteuses, avec le risque inconsidéré d'aliénation ou d'atteinte à la personnalité de la mère porteuse qui se trouve amenée à louer son corps et une partie de son temps de vie. Y a-t-il un âge limite pour le père, un âge limite à la volonté de concevoir ? Les questions sont nombreuses.

Pour alimenter la réflexion, je citerai Didier Sicard : « C'est dans l'écart, le fragile, le mal ficelé, le mal foutu que réside l'espérance d'un monde plus cohérent, n'ayons pas une vision totalement linéaire et encadrée et laissons un peu de place au hasard. » et Jean Dausset : « Il ne peut être question d'arrêter la connaissance qui constitue l'honneur de l'homme car toute connaissance est une libération de nombreuses servitudes. »

L'aventure de la fécondation *in vitro* a été incontestablement une transgression, il n'en reste pas moins que d'autres découvertes se profilent à l'horizon, interrogeant toujours plus profondément sur le sens que nous voudrons donner à la vie. Se poser la question du pourquoi des choses est donc aussi important que le comment faire. Le marché du pragmatisme qui a tout envahi ne doit pas mettre de côté ces questions fondamentales.

Après ces quelques réflexions, place à la médecine, les auteurs parmi les plus talentueux de notre communauté ont accepté de vous communiquer leur savoir basé sur leur expérience vécue de leurs pratiques médicales ou biologiques. C'est donc un état des lieux de qualité d'une science en mouvement qu'il faudra réactualiser en permanence et qui vous est proposé dans cet ouvrage.

Nous avons laissé à chaque auteur la liberté de sa réflexion puisque comme nous l'avons mentionné, il y a le « comment faire ? » qui est à la base de l'enseignement médical de cet ouvrage, mais aussi le « pourquoi faire ? » qui s'enrichit de la confrontation des points de vue personnels ou collectifs. Et sans pouvoir être exhaustifs, nous avons essayé de poser quelques jalons afin d'accompagner le lecteur dans sa propre réflexion.

Pr René Frydman

l'Émérite médecin de la reproduction,
hôpital Foch, Suresnes.

Abréviations

AACE	*American Association of clinical endocrinologists*
ABM	Agence de la biomédecine
ACAS	anticorps antispermatozoïde
ACPA	analyse chromosomique sur puce à ADN
ACTH	*adrenocorticotropic hormone*
AFC	*antral follicle count*
AFS	*American Fertility Society*
AHF	aménorrhée hypothalamique fonctionnelle
AMH	*anti-mullerian hormone*
AMM	autorisation de mise sur le marché
AMP	assistance médicale à la procréation
AMP	adénosine monophosphate
ANO	azoospermie non obstructive
AO	azoospermie obstructive
ARS	agence régionale de santé
ASRM	*American Society for Reproductive Medicine*
ATA	*American Thyroid Association*
BEH	Bulletin épidémiologique hebdomadaire
BLEFCO	biologiste des laboratoires d'étude de la fécondation et de la conservation de l'œuf
CCO	complexe cumulo-ovocytaire
CECOS	centre d'étude et de conservation des œufs et du sperme humains
CFA	comptage des follicules antraux
CNGOF	Collège national des gynécologues et obstétriciens français
Cofrac	Comité français d'accréditation
COS	*controlled ovarian stimulation*
CPDPN	centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal
DHEA	déhydroépiandrostérone
DO	don d'ovocytes
DPC	diagnostic préconceptionnel
DPI	diagnostic pré-implantatoire
EEQ	évaluation externe de la qualité
EFI	*endometriosis infertility index*
EMT	écart maximal toléré
eSET	*elective single embryo transfer*
ESHRE	*European Society of Human Reproduction and Embryology*
FC	forme classique
FCS	fausse couche spontanée
FISH	*fluorescence in situ hybridization*
FIV	fécondation *in vitro*
FIVc	fécondation *in vitro* classique
FNC	forme non classique
FSH	*follicle-stimulating hormone*
GEU	grossesse extra-utérine
GH	*growth hormone*
GnRH	*gonadotropin-releasing hormone*
GnRH-a	*gonadotropin-releasing hormone analogue*
GP	globule polaire
GPA	gestation pour autrui
GWAS	*genome wide association studies*
HAS	Haute Autorité de santé
HBPM	héparine de bas poids moléculaire
hCG	*human chorionic gonadotropin*
HCS	hyperplasie congénitale des surrénales
HGPO	hyperglycémie *per os*
HHC	*hypogonadisme hypogonadotrope congénital*
hMG	*human menopausal gonadotropin*
HSG	hystérosalpingographie
HSO	hyperstimulation ovarienne
HSO	hystérosonographie
HyCoSy	*hysterosalpingo contrast sonography*
IAC	insémination intra-utérine avec sperme du conjoint
IAD	insémination intra-utérine avec donneur
IAM	index d'anomalie multiple
ICSI	*intracytoplasmic sperm injection*
IIU	insémination intra-utérine
IM	intramusculaire
IMC	indice de masse corporelle
IMSI	*intracytoplasmic morphologically selected sperm injection*
INPES	Institut national de prévention et d'éducation pour la santé
IO	induction de l'ovulation
IOP	insuffisance ovarienne prématurée
IP	index de pulsatilité
IR	index de résistance
IVG	interruption volontaire de grossesse
LBM	laboratoire de biologie médicale
LH	*luteinizing hormone*
LHRH	*luteinizing hormone-releasing hormone*
MAR	*mixed antiglobulin reaction* (test)
MESA	*microsurgical epididymal sperm aspiration*
MIS	*mullerian inhibitory substance*
MIV	maturation *in vitro*
NIH	*National Institute of Health*
OATS	oligo-asthéno-tératospermie

oPOF *occult premature ovarian failure*
OMF ovaire multifolliculaire
OMS Organisation mondiale de la santé
OPK ovaire polykystique
PCR *polymerase chain reaction*
PESA *percutaneous epididymal sperm aspiration*
PGS *preimplantation genetic screening*
PMA procréation médicalement assistée
PTA produits thérapeutiques annexes
POF *premature ovarian failure*
ps plasma séminal
RCP réunion de concertation pluridisciplinaire
RFID *radiofrequence identification*
SA semaine d'aménorrhée
SET *single embryo transfer*
SHBG *sex hormon binding globulin*
SK syndrome de Klinefelter
SOPK syndrome des ovaires polykystiques
SPCS séparation prématurée des chromatides sœurs
SPI *screening* pré-implantatoire
TE transfert embryonnaire
TEFNA *testicular fine needle aspiration*
TESE *testicular sperm extraction*
TG taux de grossesses
TG thyroglobuline
TMS test de migration survie
TPC test post-coïtal
TPO thyropéroxidase
TRH *thyrotrophin releasing hormone*
TS tube séminifère
TSH *thyroid stimulating hormone*
VEGF *vascular endothelial growth factor*
VHB virus de l'hépatite B
VHC virus de l'hépatite C
VIH virus de l'immunodéficience humaine

Le désir d'enfant face aux gynécologues

Chapitre 1

M. Flis-Trèves

Quand la réalisation du désir d'enfant se fait attendre, le gynécologue est invité à répondre aux questions multiples et anxieuses de ses patients. Elles traduisent la diversité des inquiétudes et des non-dits soulevés par la stérilité. Comment y répondre au plus juste ?

La procréation médicalement assistée réactive bien des souffrances et des blocages auxquels médecins et patients se confrontent. Ceci est encore plus vrai dans les cas de stérilité psychogène où rien, physiologiquement, n'interdit la survenue d'une grossesse.

Un désir inné

Le désir d'enfant est avant tout un désir inconscient [1] : on aspire à être parent comme nos parents et grands-parents l'ont été. Ce désir existe déjà chez le tout-petit, garçon ou fille. Il peut jaillir sans s'annoncer et souvent de façon contradictoire avec les objectifs conscients.

Aujourd'hui, pour la plupart d'entre nous avoir un enfant implique une décision volontaire, la venue de l'enfant est rarement « un accident ». Le désir de se réaliser, de profiter de la vie, d'avoir une vie amoureuse libre et détachée des obligations familiales, de s'accomplir professionnellement est déterminant dans le fait que l'on souhaite ensuite ou non réaliser son désir d'enfant.

Traditionnellement, ce désir s'exprime plus rapidement chez les femmes que chez les hommes. Ces derniers ne sont sanctionnés par aucune échéance biologique, de plus leur rôle social est bien souvent plus affirmé ! C'est pourtant dans l'histoire naturelle du couple de désirer un enfant à un moment ou à un autre de leur vie amoureuse.

L'insupportable attente

Quand une grossesse espérée depuis plusieurs mois est sans résultat, le couple se tourne naturellement vers le gynécologue. Il est essentiel que la première consultation se déroule en présence des deux partenaires et non avec un seul (la femme le plus souvent !). Il est important de resituer d'emblée chacun comme un acteur de cette quête longue et dont l'issue n'est pas assurée. Les premières questions sont souvent formulées par la femme. Elle est la première, par divers moyens (courbes de température, tests d'ovulation par exemple) à connaître plus précisément la période appropriée pour programmer les relations sexuelles « utiles ». Il est plus rare que les hommes s'inquiètent aussi rapidement de leur fertilité.

Il faut garder à l'esprit que l'attente génère une vive inquiétude qui perturbe la vie intime du couple. Il peut s'installer une fixation sur ce bébé à venir qui envahit de plus en plus l'espace mental et la vie conjugale. Le couple peut multiplier les relations sexuelles, alors que l'envie est étouffée par la nécessité de faire un enfant. Des troubles nouveaux peuvent alors surgir : une anorgasmie chez la femme, des troubles de l'érection chez l'homme. Les conflits même anecdotiques peuvent être plus fréquents. Il y a donc une incidence de l'infertilité sur la vie du couple. Si le couple est stérile, il perd en quelque sorte de sa légitimité et il va devoir affronter assez rapidement un sentiment d'inutilité et de finitude. Il va se sentir sanctionné par les réflexions de ses amis déjà parents et le désir impatient des ascendants à devenir grands-parents. Le couple va alors chercher dans l'aide médicale à la procréation, non seulement la possibilité de réaliser le désir commun, mais aussi

d'éviter la confrontation à sa finitude par une procréation hors sexualité.

L'annonce de l'infertilité

L'annonce du diagnostic constitue un traumatisme dans le couple que l'infertilité soit d'origine physiologique ou psychologique. Hommes ou femmes sont saisis par un sentiment de dévalorisation. Ils subissent tous deux de manière intense le conditionnement des sociétés d'aujourd'hui où l'épanouissement personnel ne supporte aucun échec et s'incarne bien souvent dans l'image d'un couple de parents. L'enfant tient en effet une grande place dans les symboles de la réussite. Toutefois, hommes et femmes devront résoudre des conflits intérieurs différents.

L'infertilité chez une femme entraîne un sentiment de culpabilité, renforcé lorsqu'elle a attendu pour avoir un enfant que sa carrière professionnelle soit stabilisée. Elle s'interrogera forcément : devait-elle faire passer son épanouissement professionnel avant son désir d'enfant ?

L'infertilité met à jour un manquement majeur à ce qui détermine la place d'une femme dans la société à savoir sa capacité à être mère. Comment ne pas se sentir victime d'une malédiction, dépossédée d'une partie de soi-même ? Les bilans biologiques mettent en évidence les failles physiologiques d'un corps qui ne répond pas aux attentes. L'image de soi en est gravement affaiblie, ainsi que la vie sociale et familiale. Elle peut éprouver une véritable haine envers elle-même ou un rejet de ce corps qui ne répond pas à sa demande.

Elle doit faire en quelque sorte un deuil et dans tout processus de deuil, il y a un renoncement à faire. Celui de la fertilité ne peut se cristalliser sur rien de concret. Il ne s'agit pas de faire le deuil d'une relation, d'une personne, mais d'une fonction qui jusqu'alors semblait naturelle.

Chez l'homme, l'infertilité renvoie immédiatement à la virilité. Près d'un tiers des hommes infertiles va connaître un épisode dépressif. Il s'accompagne parfois de réactions agressives ou de manifestations de (fausse) indifférence. Les hommes, plus que les femmes, adoptent des attitudes défensives par rapport à leur propre douleur. De surcroît, les hommes intègrent souvent les mots du médecin comme autant de paroles dévirilisantes. La fécondité et la virilité sont instantanément associées. Les résultats d'analyses, les comptes rendus, les spermogrammes constituent autant de preuves de leur impuissance. Il y a une sorte d'identification entre l'individu et ses spermatozoïdes souvent qualifiés de « lents, amorphes ou paresseux » par les équipes médicales. Perte de confiance en soi ou déni prennent souvent le pas sur une attitude positive.

Hommes et femmes devront, si un don de gamètes est nécessaire, accepter l'idée d'un tiers et que l'enfant à naître ne sera pas issu de leur patrimoine génétique. Envisager cette rupture de la transmission familiale est traumatisant et nécessite parfois un cheminement accompagné d'un psychologue. Comment après un don suivi d'une grossesse, accepter un enfant qui « n'est pas le sien » ?

L'assistance médicale à la procréation (AMP) a ceci de particulier qu'elle impose bien souvent aux femmes des traitements, alors même que l'infertilité est d'origine masculine. Les compagnons sont en empathie avec ce que leurs femmes doivent vivre et en retirent une certaine culpabilité. Il leur sera plus difficile de trouver leur place dans le parcours médical. Pourtant, leur rôle est fondamental auprès de leur compagne. Connaître l'heure des rendez-vous, les traitements recommandés, assumer avec leur femme les conséquences des échecs… L'attention de chacun envers l'autre renforce les liens de solidarité.

Les stérilités psychogènes

Certaines femmes se trouvent confrontées à une infertilité sans origine physiologique décelée. Tous les examens sont normaux, rien ne devrait entraver la procréation. Cette « stérilité psychogène » [2] (15 % des indications de FIV) est parfois assimilée à un « blocage ». Il définit cette situation où le corps ne fonctionne pas comme il le devrait. Le diagnostic d'infertilité idiopathique ne constitue pas un traumatisme moins sérieux que celui d'une stérilité dont l'origine est physique. Cette blessure narcissique prend racine dans l'empreinte du passé. Quand une femme désire un enfant, elle l'inscrit dans une filiation où les « visiteurs du

passé » de sa famille sont présents. Tout le passé familial prend une valeur symbolique et les souvenirs ressurgissent : ce peut être, par exemple, une parente infertile à qui la patiente a été comparée, des mots maladroits entendus lorsque l'on était petit… L'héritage inconscient, fort lourd, peut constituer une interdiction symbolique de procréation.

Autre cas de figure : une femme peut devenir mère si sa propre mère « de l'enfance » lui a témoigné tendresse et dévouement. En reconnaissant son enfant, la mère transmet cette « dette d'existence » [3]. L'enfant peut alors s'inscrire dans une filiation. Quand il est impossible de s'identifier à sa mère (décès, abandon, dépression, séparation précoce et traumatique, etc.), les femmes peuvent refuser inconsciemment de reproduire « l'échec » de leur propre mère. Elles sont hantées par la peur de basculer dans la dépression à leur tour et de ne pas « assumer » leur enfant. La mise en mots, le sens nouveau donné à des souvenirs lors d'entretiens psychologiques doit aider à résoudre ces conflits internes.

Certaines femmes ont toujours pensé qu'elles allaient éprouver des difficultés pour mettre un enfant au monde. Ce peut être sans raison apparente ou énoncé dans une histoire particulière émaillée de traumatismes sexuels, disparition précoce d'un enfant, mort d'un aîné, non-dits, etc. D'autres femmes expriment leur désir d'enfant, mais se sont imaginées incapables d'assumer pareille responsabilité [4]. Ce sentiment ne se rattache parfois à rien de tangible apparemment dans leur histoire. Les difficultés que ses femmes rencontrent lorsqu'elles souhaitent une grossesse ravivent des souvenirs familiaux.

La parole, un soutien de la procréation médicalement assistée

La médecine résout aujourd'hui de nombreux cas d'infertilité, mais pour dépasser les obstacles invisibles des stérilités psychogènes, le médecin peut inviter les patientes à se tourner vers un soutien psychologique. Il ne doit jamais être imposé, mais conseillé lors du bilan d'infertilité. Il aide à faire un choix entre adoption et AMP et sert d'étai au cours des différentes étapes du processus de procréation médicalement assistée (PMA).

Ce soutien psychologique peut révéler à la patiente le refus inconscient d'enfanter. Il y a comme une interdiction à s'inscrire dans le lignage des femmes et des mères de leur famille.

Les rapports mères–filles sont donc bien pris en compte dans les stérilités psychogènes. Il est souvent essentiel que la patiente se réinscrive dans la généalogie de la famille pour résoudre ses conflits intérieurs.

La relation avec le père est souvent aussi à l'œuvre dans le problème de l'infertilité féminine. Les sentiments conflictuels ou passionnels envers le père sont souvent réactivés à l'occasion de ce désir d'enfant qui ne se réalise pas. Un père de l'enfance absent ou faible, violent ou humiliant, les déceptions cruelles ressenties face un amour filial ou au contraire une relation fusionnelle sont autant de freins à la maternité et seront retrouvés dans les entretiens psychothérapiques.

Une anxiété trop forte sur l'avenir engendre également des difficultés à procréer. Pour certaines femmes, l'anxiété est si forte que seuls les scénarios négatifs prévalent. Il est alors momentanément impossible pour elles d'être enceintes, car elles envisagent le pire. D'où l'intérêt d'exprimer ses fantasmes et inquiétudes auprès d'un psychologue.

Une interruption volontaire de grossesse (IVG) peut aussi parfois être à l'origine de ce blocage. Si l'enfant désiré se fait attendre ou qu'une infertilité est diagnostiquée, les remords surgissent. L'impossibilité de procréer peut être vécue comme la sanction d'un geste pourtant légitime et raisonné au moment où la décision avait été prise.

Le décès d'un premier enfant à la naissance constitue un autre levier de la stérilité psychogène. Cet événement extrêmement douloureux ne suscite pas toujours dans l'entourage ou les équipes médicales, l'attention qu'il devrait. La sidération, la stupeur, la confusion, l'inhibition traduisent chez la mère la catastrophe psychologique subie. Les parents peuvent imaginer que la naissance d'un autre enfant, bien vivant, les aidera à cicatriser la douleur de l'enfant perdu. Si cet enfant consolateur tarde à venir pour des causes qui demeurent inexpliquées, c'est peut-être que le temps n'a pas été laissé à l'accomplissement du deuil psychique.

Toutes les femmes face à la maternité peuvent envisager des scénarios douloureux, mais en règle générale, ces inquiétudes prennent sens différemment lorsqu'elles sont exprimées en entretien. Le corps peut reprendre un fonctionnement qui avait été contrarié par les « mystères » de l'inconscient et la femme un jour, goûter au bonheur d'être mère.

Références

[1] Faure-Pragier S. Les bébés de l'inconscient. Paris : PUF ; 1997.

[2] Frydman R, Frydman N, Flis-Trèves M. Un enfant … enfin…. Paris : Hachette-Santé ; 2011.

[3] Bydlowski M. La dette de vie. Paris : PUF ; 1997.

[4] Bydlowski M. Je rêve un enfant. Paris : Odile Jacob ; 2000.

La folliculogenèse : le B.A.-BA pour le médecin de la reproduction

Chapitre 2

J.-N. Hugues

Chez les mammifères, la folliculogenèse est un phénomène complexe caractérisé par la sélection folliculaire. Dans l'espèce humaine, elle présente les caractéristiques suivantes :

- il s'agit d'un processus long : à partir d'un stock folliculaire acquis avant la naissance, la croissance folliculaire nécessite plusieurs mois pour atteindre sa maturité finale ;
- il s'agit d'un phénomène cyclique : les follicules sont recrutés régulièrement depuis le stade de follicule primordial et l'ovulation survient de manière cyclique ;
- il s'agit d'un processus très sélectif : un seul des follicules recrutés atteindra l'ovulation tandis que 99 % iront vers l'atrésie ;
- la régulation hormonale par les hormones gonadotropes ne concerne que la partie finale de la croissance folliculaire ;
- la différence de sensibilité à la FSH *(follicle-stimulating hormone)* d'un follicule à l'autre explique l'asynchronie du recrutement final, la sélection et la dominance par un seul follicule.

Classification des follicules dans l'ovaire humain

Les follicules sont des structures complexes organisées autour des ovocytes différenciés à partir des gonocytes primordiaux durant la vie fœtale et bloqués dans leur division en prophase de première division méiotique. Leur nombre, estimé à 6–7 millions au 5e mois, diminue drastiquement du fait d'une apoptose spontanée pour atteindre 1 million à la naissance et 0,4 million à la puberté [1].

Si la croissance de l'ovocyte évolue peu durant la folliculogenèse (diamètre de 20–50 à 100 μm), celle du follicule proprement dit est impressionnante (diamètre de 25–65 μm à 20 mm).

Une classification morphologique a été établie en fonction de la taille folliculaire (figure 2.1) :

- les follicules primordiaux et intermédiaires (environ 50 μm) dans lesquels l'ovocyte est entouré de quelques cellules somatiques aplaties (cellules de la granulosa) ;
- les follicules primaires (60–80 μm) caractérisés par une couche de cellules de granulosa, cette fois cuboïdales. Le diamètre de la vésicule germinative atteint 20 μm : c'est l'entrée en phase de croissance proprement dite ;
- les follicules secondaires pré-antraux (200–400 μm). La granulosa est formée de deux puis plusieurs couches de cellules cubiques. L'ovocyte sécrète une enveloppe glycoprotéique, la zone pellucide, et les cellules de la granulosa établissent des jonctions communicantes avec l'ovocyte. Autour de la membrane basale, les cellules du stroma ovarien se différencient pour constituer la thèque interne. Les récepteurs de FSH et de LH *(luteinizing hormone)* apparaissent respectivement sur les cellules de la granulosa et de la thèque interne ;
- les follicules antraux (1 à 20 mm). Les cellules de la granulosa élaborent des sécrétions qui

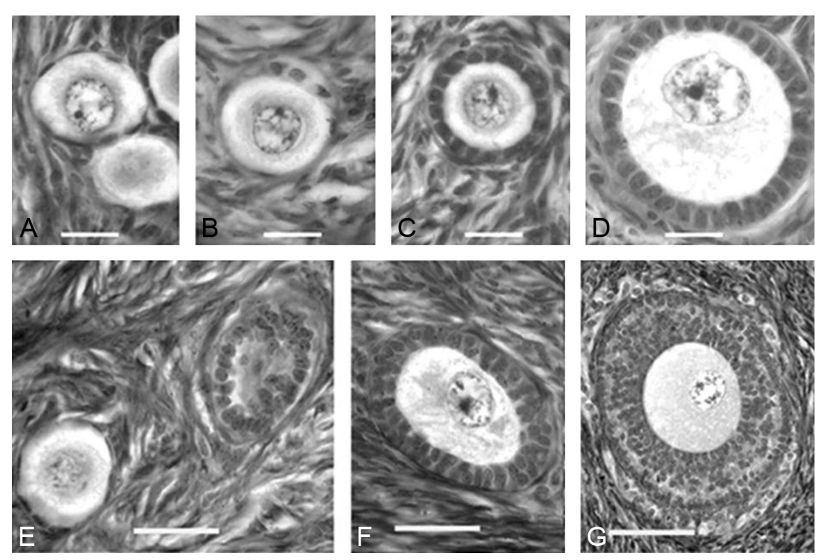


Figure 2.1 Aspects morphologiques des follicules.
a, b. Primordial et intermédiaire.
c, d. Primaire petit et grand.
e. Primaire atrétique (sans ovocyte).
f, g. Secondaire de deux couches (f) et secondaire pré-antral (g).
Source : figure issue des travaux d'A. Gougeon, unité INSERM U 1052, Lyon.

forment des microcavités entre elles et qui vont progressivement confluer en une cavité unique, l'antrum, contenant le liquide folliculaire.

L'analyse histologique de 35 prélèvements ovariens, réalisée en 1984 par A. Gougeon [2], a permis de mesurer l'index mitotique, le nombre moyen de cellules de la granulosa par follicule sain ainsi que les variations cycliques de l'effectif des follicules. Les huit classes de croissance folliculaire ainsi identifiées (figure 2.2) témoignent :

- de l'extraordinaire multiplication des cellules de la granulosa : 10^3 cellules au stade pré-antral et plus de 50.10^6 cellules au stade pré-ovulatoire ;
- de l'importance, au fil du développement, de l'atrésie folliculaire (de 15 à 77 % selon les classes) caractérisée par la présence de cellules picnotiques. Elle constitue le devenir de la majorité des follicules présents dans l'ovaire des mammifères [1] ;
- de la longueur présumée de la phase de croissance dite « rapide » (à partir du follicule secondaire) : 65 jours pour passer de la classe 1 à la classe 4 et 25 jours pour évoluer de la classe 5 à la classe 8. C'est dans cette dernière phase que s'exerce véritablement la régulation de la croissance folliculaire par les hormones gonadotropes, principalement FSH. À l'inverse, la durée de la phase de croissance dite « lente » (du follicule primaire jusqu'au stade secondaire) est beaucoup moins précise, de l'ordre de quelques mois ;
- du nombre de follicules en croissance. À partir du stock initial constitué des follicules primordiaux et primaires qui diminue avec l'âge, le nombre de follicules quittant la réserve chaque jour est de l'ordre de 1 à 3 chez la femme de 20 ans.

Le follicule qui ovule au 14e jour d'un cycle donné aura, en réalité, initié sa croissance rapide environ trois cycles avant l'ovulation.

Régulation de la croissance folliculaire

Chez les mammifères, les facteurs qui déclenchent l'entrée en croissance restent partiellement connus [3].

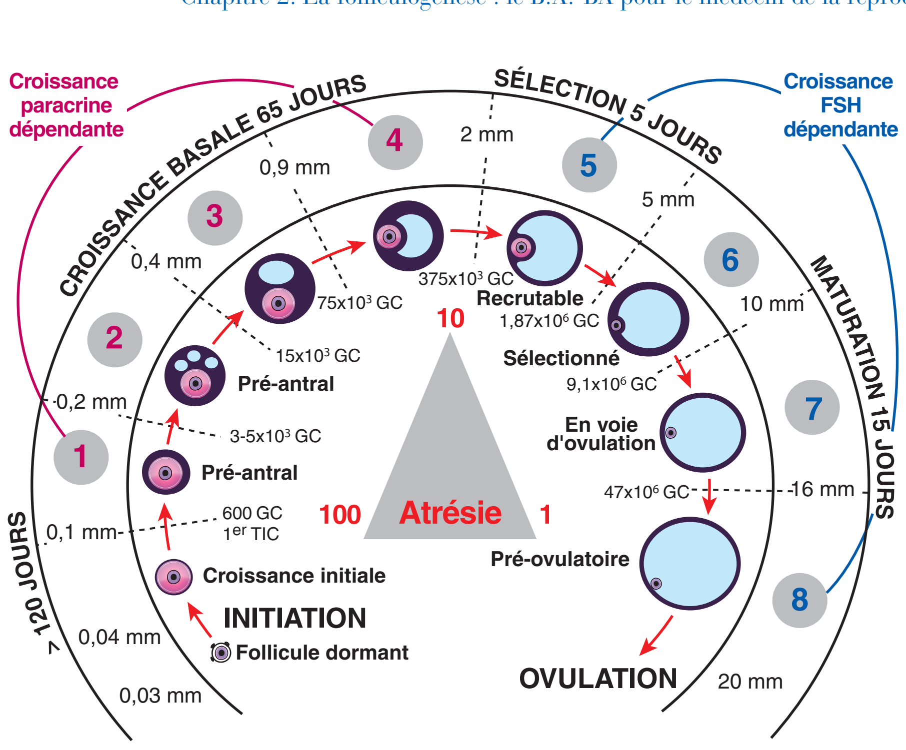


Figure 2.2 Classification des follicules du stade pré-antral au stade pré-ovulatoire selon l'analyse de Gougeon.
Ce schéma montre l'évolution en huit classes des follicules depuis le stade pré-antral jusqu'à l'ovulation. La durée de la croissance basale est de 65 jours, celle régulée par les hormones gonadotropes de 20 jours. Le diamètre folliculaire évolue de 0,1 à 20 mm. Le nombre de cellules de la granulosa passe de 6.10^2 à 50.10^6. L'atrésie folliculaire est permanente. Sur les 100 follicules de la classe 1, seuls dix atteindront la classe 5 et un seul la classe 8.
Source : figure issue des travaux d'A. Gougeon, unité INSERM U 1052, Lyon.

Croissance folliculaire basale

La croissance folliculaire jusqu'au stade antral dépend principalement de facteurs à effets autocrines et paracrines sécrétés localement par l'ovocyte et les cellules de la granulosa du follicule (figure 2.3). Les facteurs les mieux connus appartiennent à la famille du TGF-β : GDF9, BMP15 produits par l'ovocyte [4]. L'AMH *(anti-mullerian hormone)*, sécrétée par les cellules de la granulosa, contrôle également la sortie du stock folliculaire comme l'ont montré les expériences de *knock-out* chez la souris [5]. Elle exerce, de plus, un effet indirect sur la croissance des follicules pré-antraux en inhibant l'action de la FSH.

Le rôle des hormones gonadotropes est probablement minime durant cette phase même si des récepteurs ont été identifiés dès le stade pré-antral sur les cellules de la granulosa pour la FSH et sur les cellules de la thèque interne pour la LH. En effet, chez la femme hypophysectomisée, sous contraceptifs oraux ou enceinte, des petits follicules antraux (2–4 mm) peuvent être mis en évidence par l'échographie.

Croissance folliculaire « régulée »

Les hormones gonadotropes (FSH et LH) sont indispensables au développement des follicules antraux. Cette régulation endocrine n'exclut cependant pas l'implication de facteurs intra-ovariens paracrines et autocrines (stéroïdes, peptides) qui modulent l'action des gonadotrophines.

On distingue trois phases de développement folliculaire dans les 20 jours qui précèdent l'ovulation [6].

Phase de recrutement folliculaire

Le recrutement de la dizaine de follicules présents en fin de la phase lutéale du cycle précédent est le fait exclusif de la FSH. En effet, la concentration de FSH plasmatique augmente environ 4 jours avant le début de la menstruation, plus précisément 10 jours après le pic de LH plasmatique du cycle précédent. Cette élévation progressive de la FSH plasmatique est la conséquence de l'apoptose du corps jaune, en l'absence de grossesse. La chute de la sécrétion d'œstradiol et d'inhibine A qui en résulte lève le rétrocontrôle négatif exercé au niveau hypophysaire sur la FSH. De plus, la chute de la sécrétion de progestérone induit une augmentation de la fréquence et de l'amplitude des pulses de GnRH *(gonadotropin-releasing hormone)*. Cette augmentation progressive de la sécrétion de FSH hypophysaire ouvre la fenêtre de recrutement des petits follicules antraux.

Sélection folliculaire

Une caractéristique essentielle de la folliculogenèse dans l'espèce humaine réside dans le fait que la sensibilité individuelle à la FSH est différente d'un follicule à l'autre. De ce fait, le recrutement folliculaire est asynchrone, le follicule le plus sensible à la FSH (ayant le seuil de FSH le plus bas) débutant le premier sa croissance. Comme le montre la figure 2.4, les autres follicules, moins sensibles à la FSH, sont recrutés ultérieurement selon leur propre seuil de FSH [7, 8]. Cette différence de sensibilité à la FSH est probablement liée

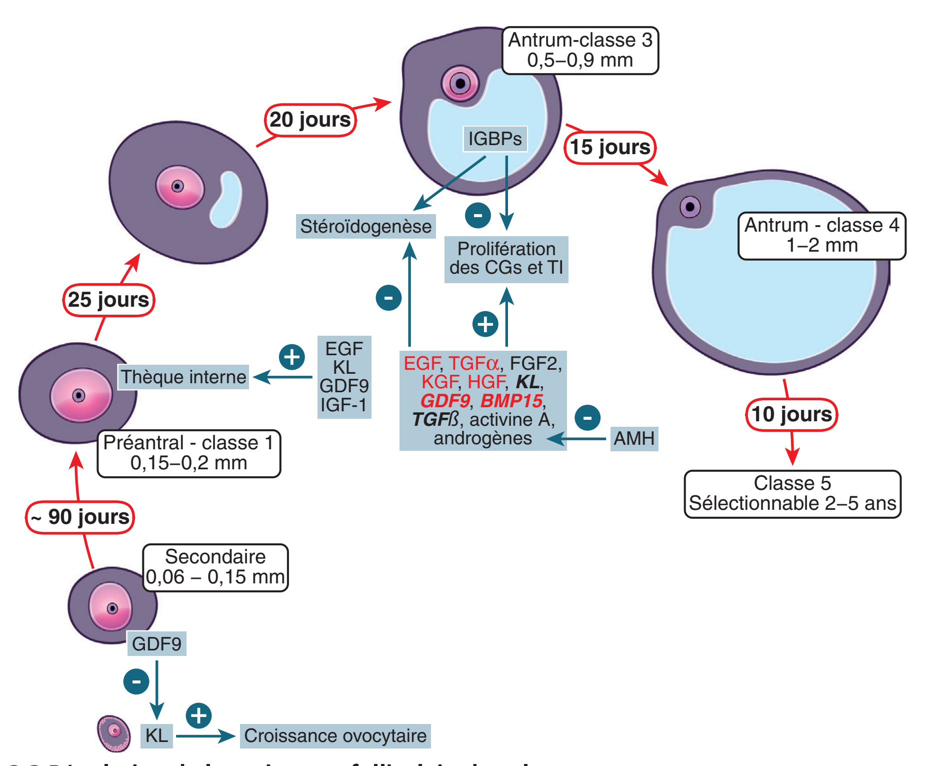


Figure 2.3 Régulation de la croissance folliculaire basale.
Au début de la croissance basale, l'ovocyte se développe rapidement sous le contrôle du ligand Kit (KL) produit par la granulosa et dont le récepteur c-kit est présent sur l'ovocyte. La production de KL est elle-même régulée négativement par GDF9, produit par l'ovocyte. La thèque interne se différencie en réponse à l'action de facteurs locaux (KL, EGF, GDF9) ou circulants (IGF-I). Pendant la croissance basale, la différenciation des cellules de la granulosa (CGs), notamment la stéroïdogenèse, est inhibée par des facteurs locaux (en rouge), tandis que leur prolifération est stimulée par ces mêmes molécules et d'autres facteurs agissant de façon locale. L'AMH inhibe la prolifération des CGs en réprimant la synthèse de molécules stimulatrices (en italiques gras). En se liant à l'IGF-II, les IGF-BPs régulent négativement la stéroïdogenèse et la prolifération des CGs.
Source : figure issue des travaux d'A. Gougeon, unité INSERM U 1052, Lyon.

à un nombre supérieur de récepteurs de FSH et/ou à une meilleure microvascularisation.

L'asynchronie du développement folliculaire explique la sélection d'un follicule, le plus sensible à la FSH. Celui-ci est facilement repérable entre le 6e et le 8e jour du cycle par sa taille à l'échographie (environ 10 mm) et par la sécrétion d'œstradiol plasmatique dont il est principalement responsable. Il a, en effet, déjà acquis un certain degré de différenciation dont témoigne l'expression de l'aromatase P450 et du récepteur de la LH au sein des cellules de la granulosa.

Dominance du follicule sélectionné sur les autres follicules

Comme le montre la figure 2.4, la production d'inhibine B et d'œstradiol par les cellules de la granulosa du follicule sélectionné induit une diminution de la FSH plasmatique (*feed-back* négatif hypophysaire). Celle-ci ferme progressivement la fenêtre de recrutement des follicules. Le seuil de FSH des follicules les moins sensibles sera ainsi progressivement atteint, induisant l'arrêt de leur prolifération. C'est le phénomène de dominance exercé par le follicule sélectionné qui, lui seul, atteindra un degré de différenciation et de prolifération lui permettant d'atteindre l'ovulation.

Durant cette dernière partie de la folliculogenèse, le rôle de la LH est également essentiel, principalement en matière de stéroïdogenèse. En effet, durant toute la phase folliculaire, la LH stimule la 17-α-hydroxylase, enzyme spécifique de la thèque interne qui permet la conversion de la progestérone en 17-OH-progestérone ultérieurement transformée en androgènes. C'est la théorie bicellulaire qui témoigne de la complémentarité des deux compartiments folliculaires pour accomplir une stéroïdogenèse complète. Néanmoins, la LH agit également sur les cellules de la granulosa qui ont acquis un récepteur spécifique dont l'expression augmente progressivement avec la différenciation folliculaire [9]. La LH a, de ce fait, une action synergique avec la FSH pour stimuler les enzymes de la granulosa (*3β-ol-dehydrogenase*–aromatase P450) et participer à la production de progestérone et d'œstradiol au sein du follicule.

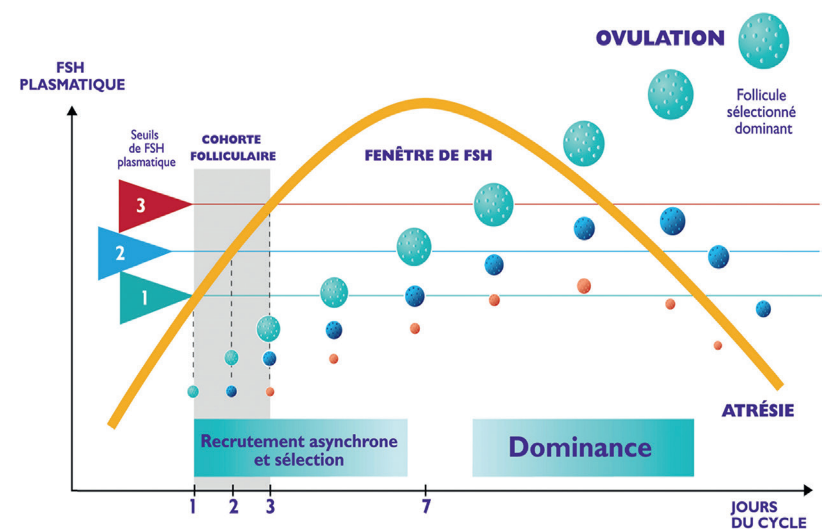


Figure 2.4 Recrutement folliculaire : concept de seuil et de fenêtre de FSH.
Cette figure illustre l'ouverture et la fermeture de la fenêtre de recrutement par la FSH.
L'augmentation de la FSH plasmatique ouvre la fenêtre de recrutement. Du fait de seuils de sensibilité à la FSH différents, les follicules sont recrutés à des temps différents de la phase folliculaire précoce. Le recrutement folliculaire est dit « asynchrone » : le follicule 1 qui a un seuil de FSH bas, est recruté plus tôt que les follicules 2 et 3 qui sont moins sensibles à la FSH. La décroissance progressive de la FSH plasmatique, secondaire à la production d'inhibine B et d'œstradiol par les follicules, ferme la fenêtre de recrutement. Elle affectera la croissance folliculaire d'autant plus tôt que le seuil de FSH est élevé. Seul le follicule le plus sensible à la FSH poursuivra sa croissance jusqu'à un stade de maturité qui lui permettra d'être ovulé.

Dans la période pré-ovulatoire, le rôle des récepteurs de la LH présents sur la granulosa est essentiel pour la reprise de méiose de l'ovocyte et l'ovulation du complexe cumulo-ovocytaire. Son implication dans l'arrêt de croissance folliculaire a été suggérée par l'équipe de S. Hillier [10]. En effet, la LH induit une augmentation intrafolliculaire d'AMP (adénosine monophosphate) cyclique qui stopperait la multiplication cellulaire au-delà d'un certain plafond de sécrétion (effet *ceiling* précédent l'ovulation). Cet effet potentiellement freinateur de la LH sur la prolifération folliculaire a été évalué lors d'un essai thérapeutique prospectif randomisé [11]. Seules des fortes doses de LH exogène ont induit un effet apoptotique sur la croissance des follicules de taille intermédiaire, ce qui remet en question son rôle en physiologie.

On peut donc conclure qu'il existe une véritable synergie entre les deux hormones gonadotropes :

- la FSH contribue au recrutement folliculaire, aux phénomènes de sélection-dominance ;
- la LH est nécessaire à une stéroïdogenèse complète et à l'ovulation du follicule sélectionné.

Au total, chez les mammifères, la folliculogenèse est un phénomène complexe qui évolue sur plusieurs mois et dont les mécanismes sont encore incomplètement élucidés. Cette régulation fait, en effet, intervenir de nombreux facteurs intra-ovariens, paracrines et autocrines, sécrétés par l'ovocyte et les cellules somatiques (granulosa et thèque interne) dont l'analyse est bien complexe dans l'espèce humaine. En fin de croissance, la dépendance folliculaire vis-à-vis des gonadotrophines permet au clinicien, en manipulant leur administration, de recruter des follicules qui iraient inexorablement vers l'atrésie. Cette propriété a permis la réalisation d'hyperstimulation contrôlée, un must de l'assistance médicale à la procréation.

Références

[1] Gougeon A. Caractères qualitatifs et quantitatifs de la population folliculaire dans l'ovaire humain adulte. Contr Fertil Sexual 1984 ; 12 : 527–35.

[2] Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human : a model from preliminary results. Hum Reprod 1986 ; 1 : 81–7.

[3] McGee EA, Hsueh AJW. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. Endocr Rev 2000 ; 21 : 200–14.

[4] Gougeon A. La croissance folliculaire dans l'ovaire humain. Médecine Clinique Endocrinologie & Diabète 2011 ; 52 : 16–21.

[5] Durlinger AL, Kramer P, Karels B, et al. Control of primordial follicular recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. Endocrinology 1999 ; 140 : 5789–96.

[6] Di Zerega GS, Hodgen GD. Folliculogenesis in the primate ovarian cycle. Endocr Rev 1980 ; 2 : 27–54.

[7] Brown JB. Pituitary control of ovarian function – concept derived from gonadotrophin therapy. Aust NZJ Obstet Gynaecol 1978 ; 18 : 46–54.

[8] Baird D. A model for follicular selection and ovulation : lessons from superovulation. J Steroid Biochem 1987 ; 27 : 15–23.

[9] Jeppesen JV, Kristensen SG, Nielsen ME, et al. LH receptor gene expression in human granulosa and cumulus cells from antral and preovulatory follicles. J Clin Endocrinol Metab 2012 ; 97 : 1524–31.

[10] Hillier SG. Current concepts of the role of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. Hum Reprod 1996 ; 9 : 188–91.

[11] Hugues JN, Soussis J, Calderon I, on behalf of the Recombinant LH Study Group, et al. Does the addition of recombinant LH in WHO group II anovulatory women over-responding to FSH treatment reduce the number of developping follicles ? A dose-finding study. Hum Reprod 2005 ; 20 : 629–35.

Chapitre 3

Importance de la réserve ovarienne

D. de Ziegler, P. Pirtea, K.-R. Pocate Cheriet

L'assistance médicale à la procréation (AMP) ou procréation médicalement assistée (PMA) – anciennement appelée fécondation *in vitro* (FIV) – est le traitement de choix des infertilités tubaires et masculines (avec *intracytoplasmic sperm injection* ou ICSI). L'AMP est également le traitement ultime de toutes les autres causes d'infertilité, étant alors entreprise après que toutes les autres options ont échoué. Dès son début pratiquement, l'AMP a été intimement associée à la stimulation ovarienne contrôlée (*controlled ovarian stimulation* ou COS) conçue pour augmenter le nombre d'ovocytes disponibles et donc le nombre d'embryons potentiellement obtenus.

Aujourd'hui, la COS pour AMP demeure la plus efficace des mesures jamais prises pour augmenter les résultats de l'AMP. Ce lien intime entre COS et AMP a amené à confondre souvent les résultats de l'un – le nombre d'ovocytes obtenus – et ceux de l'autre – les taux de grossesses.

Les traitements choisis pour la stimulation ovarienne, notamment les doses de gonadotrophine utilisées, doivent être ajustés aux besoins de la patiente et à l'importance anticipée de la réponse ovarienne. Après avoir opté pour la FIV, il convient donc d'effectuer un bilan pour déterminer le mode de stimulation à choisir – type de protocole – et surtout, les doses de gonadotrophines (*follicle-stimulating hormone* ou FSH, *human menopausal gonadotropin* ou hMG) à utiliser.

Les bilans destinés à choisir ces traitements – les protocoles COS – visent à déterminer le nombre de follicules susceptibles de répondre à la stimulation, ce qui est communément appelé « réserve ovarienne ». Les différents paramètres de la réserve ovarienne servent donc à choisir les doses – FSH ou hMG – à prescrire. Comme nous le verrons plus loin, la réserve ovarienne ne prévoit par contre pas les chances de grossesse au-delà de ce qui peut être anticipé par la seule notion de l'âge de la patiente et de son contexte clinique (nombre de stimulations antérieures).

Les bilans à effectuer avant la mise en place de l'AMP doivent aussi déterminer la nature et le degré des risques encourus. Quand ceux-ci sont plus élevés, il convient d'avoir recours à des protocoles d'AMP à bas risque conçus pour les patientes à risque élevé. Enfin, les bilans avant AMP doivent aussi identifier la présence de pathologies particulières telles que, notamment, le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) et l'endométriose. En effet, ces deux pathologies qui sont fréquentes chez les femmes infertiles commandent des dispositions particulières pour optimiser les résultats de l'AMP dans ces cas et notamment la réceptivité endométriale.

Réserve ovarienne

Définition

Le terme de réserve ovarienne regroupe l'ensemble des paramètres capables de prévoir la réponse de l'ovaire à la stimulation d'une ovulation multifolliculaire comme cela est pratiqué en AMP. Le terme lui-même suggère bien plus que ces paramètres sont en réalité capables de prévoir. En effet le mot « réserve » comporte une projection dans l'avenir laissant imaginer que l'on serait capable de dire ce qu'il resterait comme follicules disponibles et surtout, ce que sera la réponse ovarienne dans un avenir plus ou moins proche. La réalité est bien différente. L'ensemble des paramètres retenus pour la mesure de la réserve ovarienne prévoit simplement ce que sera la réponse à une

stimulation ovarienne immédiate, mais n'offre pas de projection dans l'avenir. La nature même du terme et en particulier le concept de « réserve » sont donc à même d'induire en erreur et de faire croire à un pouvoir de prédiction qui n'est pas. Les trois paramètres principaux de la réserve ovarienne sont décrits plus bas.

Compte des follicules antraux

Un follicule ovarien est qualifié d'« antral » lorsque les cellules de la granulosa ont acquis des récepteurs à la FSH et par là, la capacité de répondre à une élévation de la FSH plasmatique (figure 3.1). Celle-ci peut être d'origine endogène ou exogène. Pendant la période intercycle, il existe une élévation discrète de la FSH endogène – le signal FSH intercycle – qui exerce un effet sur les follicules antraux présents à ce moment. On estime que le nombre total (des deux côtés) de follicules antraux présents à un instant donné est de 10 à 20 chez une femme entre l'âge de 20 et 40 ans.

De plus, les follicules antraux acquièrent une cavité – d'où leur nom – qui se forme de manière contemporaine à l'apparition des récepteurs à la FSH. Cette cavité permet de reconnaître les follicules antraux à l'échographie et d'estimer leur nombre afin d'obtenir le score des follicules antraux ou *antral follicle count* (AFC) des Anglo-Saxons. Par définition, les follicules antraux sont identifiés par la présence d'une cavité sonotransparente de 2 à 9 mm de diamètre. À l'opposé, un follicule supérieur à 10 mm est probablement déjà entré dans sa phase finale de croissance ou est un follicule atrétique. Aujourd'hui, des systèmes permettent un comptage automatique des follicules antraux à partir d'un système de reconnaissance d'image évoluant dans une matrice 3D. Ce système doit cependant être évalué.

L'interprétation du score AFC se fait sur la base des résultats de mesure des deux ovaires. Compter des follicules inférieurs à 2 mm n'est pas souhaitable car cette mesure serait grandement influencée par des paramètres techniques,

Réserve ovarienne

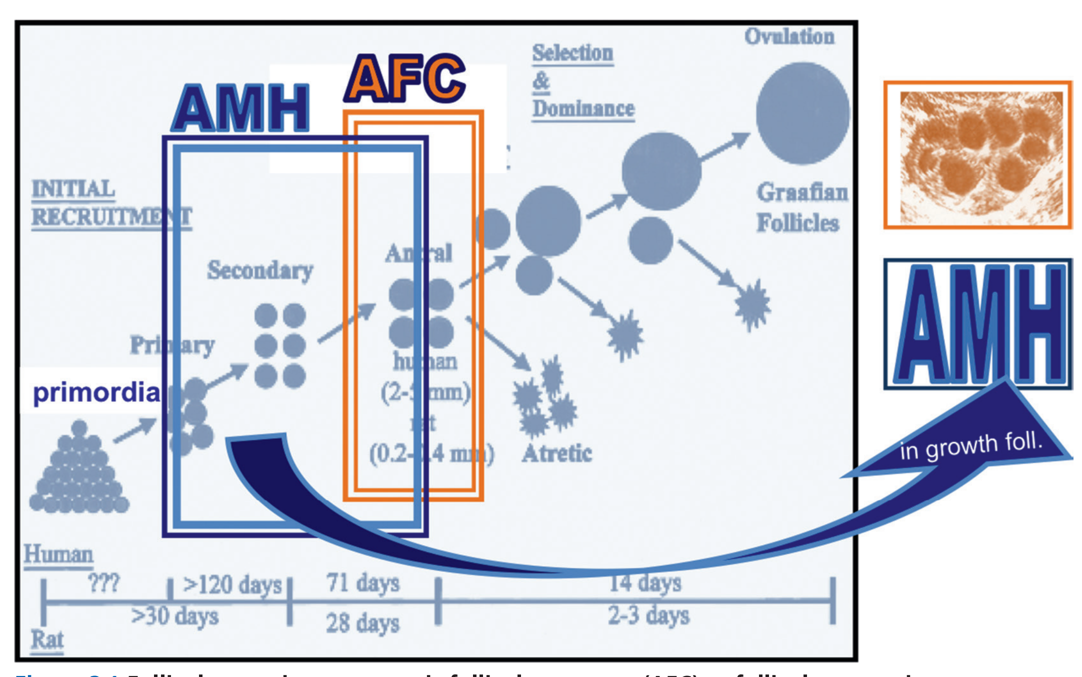


Figure 3.1 Follicules ovariens, y compris follicules antraux (AFC) et follicules en croissance produisant de l'AMH (AMH).
Source : Selon McGee EA, Hsueh AJW. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. Endocr Reviews *2000 ; 2 : 200.*

comme notamment le poids de la patiente et le type de machine utilisé.

Selon Gougeon, il existe une incertitude fondamentale sur la nature des follicules qui sont repérés à l'échographie et identifiés sur la base de la présence d'une cavité de 2 à 9 mm [1]. En règle générale, Gougeon estime que 85 % des follicules comptés représentent de véritables follicules antraux susceptibles de répondre à la stimulation, alors que les 15 % restants sont des follicules atrétiques qui ne répondront pas [1]. Les appareils d'échographie actuels ne permettent pas de distinguer les deux catégories de follicules (antraux et atrétiques). De plus, il est connu que dans des conditions particulières, comme en cas de faiblesse ovarienne notamment, ce pourcentage peut varier grandement jusqu'à atteindre 50 % de follicules atrétiques comptés par erreur comme follicules antraux. Par conséquent, l'incertitude sur la nature biologique des follicules mesurés – antraux ou atrétiques – est largement supérieure à l'erreur méthodologique propre qui est due à la machine. Un jour, des techniques échographiques permettront sans doute de déterminer quels sont les follicules qui sont fonctionnellement antraux – avec récepteurs à la FSH et susceptibles de répondre à une stimulation – de ceux qui sont atrétiques (et échographiquement semblables).

En règle générale, le nombre de follicules antraux ne varie pas au cours du cycle menstruel car ce nombre – le score AFC – est constamment refourni par des nouveaux follicules en croissance qui atteignent le stade de follicules antraux. Cependant, il est habituel de procéder au comptage des follicules antraux en début de cycle, notamment parce que ceci est techniquement plus aisé. À l'opposé, un compte des follicules antraux en phase folliculaire ou lutéale peut être gêné par la présence d'un follicule en croissance ou d'un corps jaune, mais le nombre mesuré n'est pas intrinsèquement différent. Le compte des follicules antraux – ou score AFC – est rapporté comme la valeur totale comptée sur les deux ovaires.

Le compte des follicules antraux ou score AFC est considéré comme étant un reflet du nombre de follicules primordiaux – le bagage ovocytaire – présents à un moment donné. Cette assomption est basée sur le principe que la croissance folliculaire – nombre de follicules ayant quitté le *pool* des follicules primordiaux – se fait à pourcentage constant du nombre des follicules primordiaux restants.

Hormone antimüllerienne (AMH)

L'hormone antimüllerienne (*anti-mullerian hormone* ou AMH) ou parfois appelée *mullerian inhibitory substance* (MIS) est produite par la gonade primitive masculine pendant la vie fœtale – et responsable de la régression du système müllerien – et par les petits follicules en croissance de l'ovaire. La production ovarienne d'AMH est le produit des petits follicules antraux et surtout des follicules classés comme pré-antraux et donc non visibles à l'échographie (voir figure 3.1). On estime que le nombre de follicules produisant de l'AMH est compris en moyenne entre 100 et 200 chez une femme entre 20 et 40 ans.

Il n'est pas clairement établi si la production d'AMH par follicule varie et si elle peut être influencée par des phénomènes hormonaux locaux. On pense aujourd'hui cependant que la mesure des taux d'AMH plasmatiques reflète nombre de follicules pré-antraux. Comme pour les follicules antraux, la cohorte des follicules produisant de l'AMH – et donc les taux d'AMH – reflète la taille de la cohorte de follicules primordiaux présente à un moment donné. Par conséquent, les taux d'AMH et le score AFC sont liés l'un à l'autre chez une même personne, offrant tous deux un reflet indirect de la cohorte des follicules primordiaux restants.

Dialogue pituito-ovarien : FSH/E2 à J3

Le marqueur de la réserve ovarienne est la mesure de la FSH en début de cycle, typiquement au jour 3 du cycle menstruel. Il existe en effet à cette période, et à cette période seulement, un dialogue fonctionnel entre le signal hypothalamo-pituitaire et la réponse ovarienne. La FSH plasmatique s'élève à J3 environ créant un signal FSH intercycle dont l'amplitude moyenne est de 2,5 mIU/mL. Cette amplitude est plus importante chez les femmes dont la réserve ovarienne est altérée. Les follicules doués de récepteurs à la FSH répondent au signal FSH en produisant de l'E2 et de l'inhibine B, ce

qui aboutit à abaisser les taux de FSH par effet de *feed-back* négatif. Par conséquent, une diminution du nombre des follicules répondant au signal FSH se traduit par un signal plus important et donc des taux de FSH plus élevés à J3. Par conséquent, la valeur de la FSH à J3 est un reflet inverse du nombre de follicules antraux disponibles à ce moment-là [2].

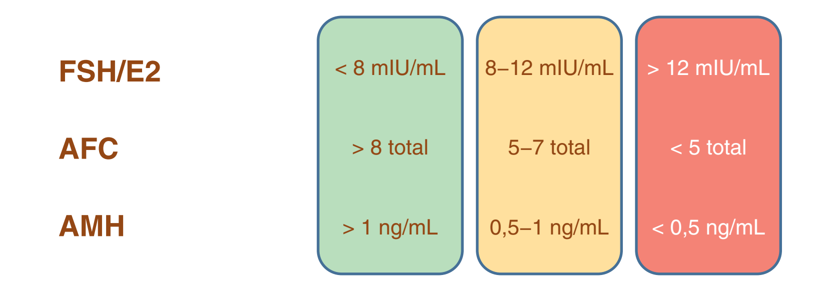
Dans certains cas, l'élévation de la FSH est très précoce et a lieu avant le 3e jour du cycle. Dans ces cas, la mesure à J3 fait apparaître une élévation des taux d'E2 égaux ou supérieurs à 40 pg/mL. Celle-ci indique que la FSH est déjà redescendue (par effet *feed-back* négatif de l'E2) et que par conséquent, une valeur de FSH basse à J3 n'a plus aucune signification favorable. L'expérience indique que l'élévation de FSH mesurée à J3 (notamment > 12 mIU/mL) a une bonne valeur prédictive de mauvaise réponse, mais à l'opposé une valeur bonne (basse) a peu de valeur prédictive de bonne réponse ovarienne. Une élévation des taux d'E2 (≥ 40 pg/mL) à J3 invalide une valeur de FSH qui serait basse à ce moment-là.

Réserve ovarienne : erreurs de mesure

Tous les différents paramètres de réserve ovarienne donnent un reflet de l'ampleur de la réponse que l'on peut attendre. Par contre chacun de ces paramètres est entaché de sources d'erreur possible qui sont cependant mutuellement indépendantes. Par conséquent, nous pensons qu'il est préférable de mesurer les trois paramètres de la réserve ovarienne afin d'éviter des mauvaises interprétations pouvant amener à des erreurs de traitement (dose de FSH/hMG utilisée) :

- score AFC : incertitude sur la nature – fonctionnelle ou non – des follicules mesurés. Dans certains cas environ 50 % des follicules mesurés sont atrétiques, alors que ce n'est normalement le cas que de 15 % seulement [3] ;
- taux d'AMH : la mesure des taux d'AMH est en principe stable au cours du cycle menstruel et après la prise d'hormones [4, 5], mais des différences ont été rapportées liées à la gestion de l'échantillon après la mesure (durée, température, etc.) [6] ;
- FSH/E2 à J3 : une élévation de FSH augure d'une mauvaise réponse à la stimulation ovarienne (COS). La FSH est en fait un bon marqueur de mauvaise réponse ovarienne, alors qu'une valeur de FSH normale a une mauvaise prédiction de bonne réponse ovarienne. De plus, les valeurs de FSH fluctuent d'un mois à l'autre. Dans ce cas, il a été établi que c'est la valeur la plus mauvaise – la plus élevée – qui porte la prédiction de la réponse ovarienne à la stimulation pour AMP.

Pratiquement, nous utilisons la symbolique illustrée dans la figure 3.2. Ainsi, une évaluation de la réserve ovarienne donne un score compris entre « 3 verts » et « 3 rouges » et toutes les situations intermédiaires (voir figure 3.2).



Mesure des trois marqueurs de réserve ovarienne

interpréter en fonction des circonstances cliniques

Figure 3.2 Analyse et interprétation des paramètres de réserve ovarienne avec attribution d'un triple code couleur.

Réponse ovarienne et choix du protocole de stimulation

Une fois le recours à l'AMP choisi, il convient de sélectionner le protocole de stimulation le plus adéquat pour chaque patiente. Pour ceci, on mesure les paramètres de la réserve ovarienne dans le but d'ajuster les doses initiales de FSH/hMG utilisées. La référence choisie est celle de 150 IU/j qui convient en principe à une femme jeune ayant une fonction ovarienne normale. Cette dose est ajustée à la hausse ou à la baisse en fonction des paramètres cliniques de réserve ovarienne et, si disponibles, des données sur des stimulations antérieures. Une femme jeune atteinte de SOPK aura une dose réduite par exemple à 112,5 IU dès le 3e jour de la stimulation. À l'opposé, une femme plus âgée dont l'AMH est basse recevra une dose initiale de FSH/hMG de 300 IU/j. D'une manière générale, on préfère les protocoles antagonistes en raison de la possibilité qu'ils offrent d'éviter les hyperstimulations.

Prévoir les réponses excessives ou trop faibles

Une fois l'AMP décidée, l'évaluation de la réserve ovarienne permettra de déceler les réponses ovariennes qui risquent d'être trop faible en raison d'un effondrement de ces valeurs. La figure 3.3 a définit comment l'évaluation de la réserve ovarienne permet d'identifier les personnes qui vont avoir une réponse ovarienne trop faible. Il convient alors de déterminer si cette diminution de la quantité ovocytaire est associée ou non à une diminution de leur qualité. L'apparence d'un lien essentiel entre qualité et quantité ovocytaires est illustrée sur la figure 3.4 : à gauche, on voit comment les résultats de l'AMP rapportés par le registre américain (CDC, Atlanta) diminuent avec l'âge. Sur ce même diagramme, on voit aussi que les résultats du don d'ovocytes ne sont, par contre, pas influencés par l'âge de la receveuse. La juxtaposition de ces deux courbes indique donc que la baisse des résultats de l'AMP observée chez les femmes de plus de 37 ans est due à une baisse de la qualité ovocytaire puisque les résultats du don sont stables.

La partie droite de la figure 3.4 montre la diminution des follicules primordiaux en fonction de l'âge comme elle est rapportée par l'équipe d'A. Gougeon [7]. La ressemblance entre les deux courbes – qualité (droite) et quantité (gauche) ovocytaires – a contribué à laisser supposer que les diminutions de qualité et quantité ovocytaires sont liées. En fait, ce lien entre qualité et quantité n'est qu'apparent et est le seul résultat des effets confondants de l'âge qui affecte à la fois la quantité et la qualité ovocytaires. À l'opposé, les atteintes isolées de la quantité ovocytaire due à un facteur autre que l'âge – endométriose ovarienne par exemple – n'ont pas nécessairement un impact sur la qualité ovocytaire [8]. Ainsi, une mauvaise répondeuse dont les problèmes sont liés à de l'endométriose ovarienne peut avoir des chances de grossesse acceptable en AMP. À l'opposé, une baisse de la réserve ovarienne liée à l'âge comme cela peut être rencontré

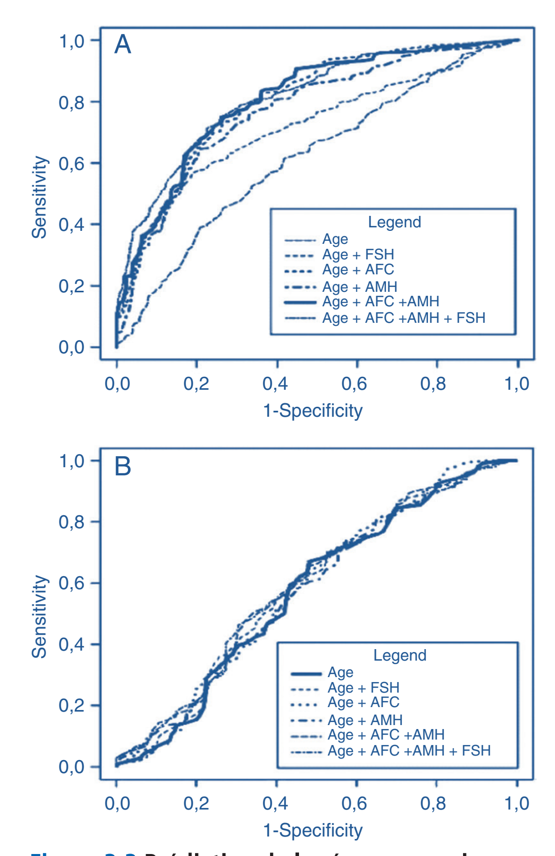
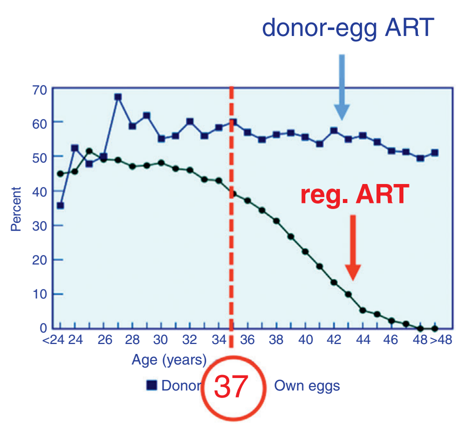


Figure 3.3 Prédiction de la réponse ovarienne.
a. Valeur de l'AMH et FSH améliorent la prédiction d'une mauvaise réponse ovarienne fournie par l'âge seul. AMH, score AFC et FSH à J3 améliorent la prédiction fournie par l'âge seul.
b. Valeur de l'AMH, score AFC et FSH améliorent la prédiction de la survenue d'une grossesse en AMP.

UNE ERREUR PERSISTANTE



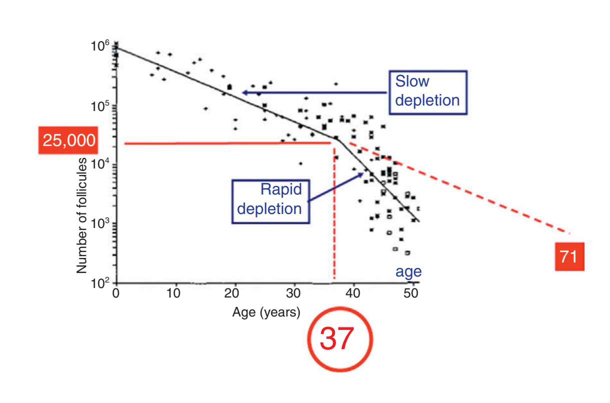


Figure 3.4 Qualité et quantité ovocytaires.
Qualité ovocytaire : diminution des taux de grossesses en FIV conventionnelle (reg. ART) en fonction de l'âge, alors que les résultats du don d'ovocyte (*donor-egg* ART) restent constants à tous les âges.
Quantité ovocytaire : diminution du nombre de follicules primordiaux totaux en fonction de l'âge.

chez une femme de 40 ans ou plus est associée à une baisse de la qualité ovocytaire et a par conséquent des chances très faibles en AMP.

Prévoir les taux de grossesses

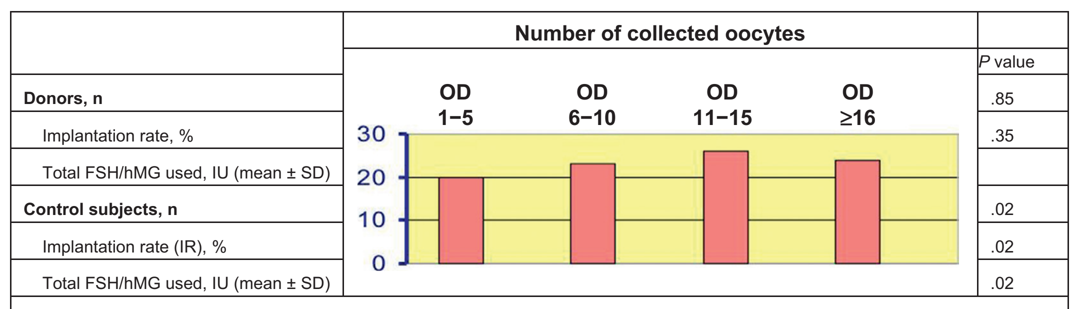
Si les paramètres de réserve ovarienne prévoient la réponse ovarienne à la stimulation (voir figure 3.3a), ils ne prévoient pas les chances de grossesse (voir figure 3.3b). Cette différence résulte de l'absence de lien fondamental entre qualité et quantité ovocytaires hormis ceux apparents dus aux effets confondant de l'âge qui agit sur qualité et quantité ovocytaires.

Les réponses ovariennes faibles rencontrées chez des femmes jeunes réduisent l'efficacité de l'AMP mais ne sont pas nécessairement liées à une diminution de la qualité ovocytaire. Par exemple, les donneuses d'ovocytes recrutées en France doivent être fertiles. Or certaines donneuses qui sont jeunes et fertiles présentent néanmoins des réponses ovariennes faibles. Dans ces cas, la qualité des ovocytes n'est pas diminuée. En effet, la qualité ovocytaire de donneuses fertiles fournissant un à cinq ovocytes est identique à celle observée chez des femmes ayant des réponses plus importantes (figure 3.5).

La prévision des chances de grossesse en AMP ne peut se faire qu'en combinant les résultats de la réserve ovarienne et la cause d'une éventuelle diminution. Lorsque la diminution est due – ou associée – à l'âge, il n'est pas raisonnable d'entreprendre une AMP s'il n'est pas possible d'obtenir au moins cinq ovocytes, car l'âge affecte la qualité et la quantité ovocytaires. À l'opposé, en cas de mauvaise réponse ovarienne non liée à l'âge, il est possible de poursuivre un projet d'AMP même si seulement deux ovocytes sont disponibles.

Prévoir et éviter les risques de la stimulation

L'AMP cause des sur-risques par rapport aux risques inhérents à la grossesse et à la période du post-partum, notamment un sur-risque thrombo-embolique. Bien que ce risque ait été attribué à la fois à l'importance de la réponse ovarienne à la stimulation et aux taux d'E2, on sait maintenant qu'il est en fait le résultat d'un effet de l'hCG sur les follicules ovariens stimulés. En effet, l'hCG – exogène utilisé pour induire la phase finale de la maturation ovocytaire et endogène, en cas de grossesse – induit la production de substances vaso-actives (*vascular endothelial growth factor* ou VEGF notamment). Le VEGF



	Number of collected oocytes	*P* value
Donors, n		.85
Implantation rate, %		.35
Total FSH/hMG used, IU (mean ± SD)		
Control subjects, n		.02
Implantation rate (IR), %		.02
Total FSH/hMG used, IU (mean ± SD)		.02

Note: Mean embryo IR in recipients paired with each donor is not influenced by the number of oocytes retrieved in the donor. Conversely, IR increases in control subjects when more oocytes are retrieved. The total dose of gonadotropin used does not vary with the number of oocytes retrieved in donors, but it is significantly lower when more oocytes are collected in control subjects.

Figure 3.5 Taux d'implantations en don d'ovocytes en fonction du nombre d'ovocytes obtenus chez la donneuse indiquant des valeurs semblables si un à cinq ou plus d'ovocytes ont été obtenus.
Source : D'après de Ziegler D, et al. *Multiplying recipients paired with oocyte donors optimizes the use of donated oocytes.* Fertil Steril *2011 ; 95 : 1633–8.*

stimulé par l'hCG induit un flux vers le 3e secteur (ascite) et par voie de conséquence, une hémoconcentration. L'hémoconcentration qui résulte de l'extravasation vers le 3e secteur est effectivement le facteur qui joue le rôle principal dans l'augmentation du risque thrombo-embolique lié à l'AMP.

Il est aujourd'hui possible de procéder à un cycle d'AMP en évitant toute exposition à l'hCG grâce à un déclenchement par GnRH-a *(gonadotropin-releasing hormone analogue)* en protocole antagoniste. Cette approche accompagnée d'un transfert différé aboutit à ce que la grossesse éventuelle produit de l'hCG à un moment où il n'y a plus de follicules stimulés susceptibles d'y répondre par une extravasation vers le 3e secteur.

Le bilan à effectuer une fois AMP décidée doit donc également déterminer le niveau de risque de chaque patiente et en particulier exclure la possibilité d'un sur-risque thrombo-embolique. Dans le cas où cette recherche est positive (un sur-risque est identifié), il est indiqué de choisir un protocole « risque bas » associant protocole antagoniste, déclenchement agoniste et transfert différé.

Anticiper endométriose et ovaires polykystiques (SOPK)

Une fois que le recours à l'AMP est décidé, il convient également d'identifier les pathologies qui sont susceptibles d'influer la réponse à la stimulation et les résultats de l'AMP. Deux pathologies requièrent une mention spéciale en raison de la fréquence de leur association à l'infertilité et donc à l'AMP, l'endométriose et le SOPK.

L'endométriose et son extension utérine, l'adénomyose, doivent être suspectées et identifiées chez des femmes infertiles envisageant des cycles d'AMP. L'endométriose affecte les chances de concevoir par des effets exercés dans la cavité pelvienne, sur les ovaires et au niveau de l'utérus lui-même où la maladie affecte la réceptivité endométriale (figure 3.6). Pour cela, il convient d'identifier les éléments suggestifs dans l'histoire de la patiente et de procéder aux éventuels contrôles diagnostiques. En cas d'endométriose, il convient de procéder à un blocage ovarien (pilule contraceptive) de 6 à 9 semaines avant l'AMP ou de recourir à un protocole avec transfert différé.

En cas de SOPK, la réponse ovarienne risque d'être explosive et/ou excessive et peut être associée à une diminution de la réceptivité notamment en cas de syndrome de masculinisation. Dans ce cas, les patientes peuvent bénéficier d'un blocage temporaire de la fonction ovarienne par la prise ponctuelle de contraceptif oral (6–9 semaines).

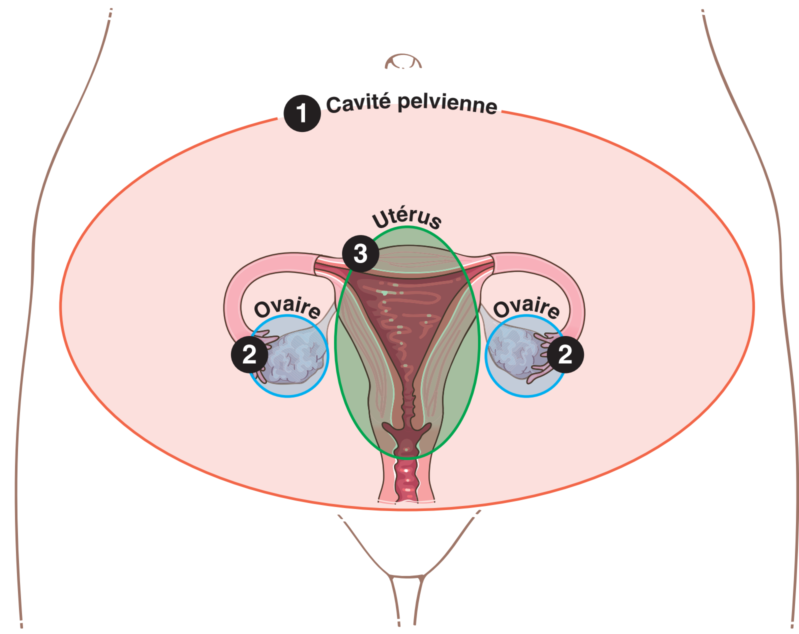


Figure 3.6 **Effets de l'endométriose sur la fertilité exercés au niveau de la cavité pelvienne (1), des ovaires (2) et de l'utérus (3).**

Conclusion

Une fois que la décision de recourir à l'AMP est prise, il convient de procéder à une évaluation de la réserve ovarienne pour prévoir la réponse à la stimulation et choisir le protocole optimal. L'interprétation des résultats doit prendre en considération la cause d'une éventuelle diminution de la réserve ovarienne et déterminer si celle-ci est due à l'âge ou non.

Le bilan doit également déterminer l'existence de risques individuels. L'existence d'un risque thrombo-embolique justifie de recourir à une AMP sans hCG ou AMP à risque bas. Enfin, le bilan doit statuer sur l'existence éventuelle d'endométriose ou de SOPK qui requièrent souvent un blocage ovarien préalable de 6 à 9 semaines.

Références

[1] Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates : facts and hypotheses. Endocr Rev 1996; 17 : 121–55.
[2] Broekmans FJ, Verweij PJ, Eijkemans MJ, et al. Prognostic models for high and low ovarian responses in controlled ovarian stimulation using a GnRH antagonist protocol. Hum Reprod 2014; 29 : 1688–97.
[3] Broekmans FJ, de Ziegler D, Howles CM, et al. The antral follicle count : practical recommendations for better standardization. Fertil Steril 2010; 94 : 1044–51.
[4] Streuli I, Fraisse T, Pillet C, et al. Serum antimullerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. Fertil Steril 2008; 90 : 395–400.
[5] Streuli I, Fraisse T, Chapron C, et al. Clinical uses of anti-mullerian hormone assays : pitfalls and promises. Fertil Steril 2009; 91 : 226–30.
[6] Fleming R, Fairbairn C, Blaney C, et al. Stability of AMH measurement in blood and avoidance of proteolytic changes. Reprod Biomed Online 2013; 26 : 130–2.
[7] Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life : implications for forecasting menopause. Hum Reprod 1992; 7 : 1342–6.
[8] de Ziegler D, Gayet V, Aubriot FX, et al. Use of oral contraceptives in women with endometriosis before assisted reproduction treatment improves outcomes. Fertil Steril 2010; 94 : 2796–9.

Apport de l'échographie dans la fertilité féminine

Chapitre 4

E. Nataf, C. Ferretti, M. Valière

Une échographie pelvienne réalisée dans le cadre d'un bilan de fertilité n'est pas une échographie pelvienne standard : elle obéit à un certain nombre d'objectifs et doit être réalisée par un praticien sensibilisé. Elle marque souvent le début d'un parcours parfois long et difficile. Face à la « vérité » parfois brutale des images, l'échographiste est en première ligne et doit faire face à divers profils psychologiques à un effet d'annonce, nécessitant tact et mesure.

Par ailleurs, la question de la fertilité est souvent présente au cours de toute échographie pelvienne réalisée chez une femme en âge de procréer même sans projet immédiat.

L'échographie pelvienne doit renseigner au mieux sur les trois événements indispensables à la survenue d'une grossesse : la production des gamètes, leur transport jusqu'à la cavité utérine, et les processus conduisant à une nidation optimale. On parle d'imagerie fonctionnelle : en effet, celle-ci ne doit plus se limiter à une simple description des organes et doit permettre de les étudier par rapport au statut hormonal, à la phase du cycle, à un éventuel traitement.

Technique : trucs et astuces

Avoir toujours une *check-list* en tête :

- respecter toujours le même ordre dans l'étude des organes et dans la prise des clichés (un bon *process* aidera à ne pas oublier des étapes) ;
- suivre la *check-list* ;
- donner toujours son importance au temps abdominal pour ne pas passer à côté de masses à développement supérieur qui pourraient être méconnues par voie vaginale, comme des myomes sous-séreux. Cette voie peut également donner une vue d'ensemble ;
- l'étude du périnée et de la paroi vaginale peut être importante… ;
- la main gauche permet l'écho-palpation : appuyer sur le ventre peut aider à se rendre compte d'une éventuelle fixité des organes et guider le reste de l'examen, à la recherche par exemple d'endométriose profonde.

Compte rendu type d'échographie pelvienne de bilan en période menstruelle (décompte optimal des follicules antraux à cette période)

Il doit comporter :

- **utérus :** dimensions, reconstruction 3D, une éventuelle malformation ;
- **hystérométrie** : mensuration « à main levée » de la cavité utérine de l'orifice utérin externe au fond utérin ; mesurer l'angle col-corps (aide au transfert) ;
- **myomètre** : présence de myomes, cartographie, cicatrice de césarienne (mur myométrial résiduel) ;
- **zone jonctionnelle :** structure, épaisseur et dépistage d'adénomyose ;
- **cavité :** mal renseignée en période menstruelle (mauvais contraste tissulaire, caillotage intra cavitaire) ;
- **col utérin :** signaler les kystes de Naboth, les obstacles possibles au transfert (myome, polype) ;
- **ovaires :** dimensions (volume, follicules, stroma, kystes, etc.) ; type : polykystique, risque d'hyperstimulation ovarienne (HSO) ; accessibilité à la ponction : adhérence, blindage ;
- **trompes :** présence éventuelle d'hydrosalpinx, kyste péritonéal ;
- **Douglas :** présence d'épanchement ;
- **Doppler :** mesure des résistances vasculaires au niveau de l'artère utérine.

Production des gamètes : les ovaires

L'anatomie « fertile » de l'ovaire s'apprécie principalement à partir de l'étude de deux paramètres : les follicules et le stroma ovarien.

L'évaluation de la réserve ovarienne se fait par le comptage des follicules antraux (CFA) [1, 2].

Follicules

Nombre

Les follicules que l'on voit dans l'ovaire sont les follicules de classe V ou pré-antraux : il s'agit d'images liquidiennes sphériques (le liquide occupe la cavité antrale). Ces follicules sont devenus pré-antraux 70 jours plus tôt. Ils sont le reflet quantitatif de la réserve ovarienne globale.

Ce compte est théoriquement non affecté par la pilule œstroprogestative et il existe une petite variation intracycle. Il est généralement corrélé au volume stromal. Avec l'évolution technologique, certaines sondes haute définition permettent de voir les follicules de classe IV entre 1 et 2 mm.

Taille (figure 4.1)

Elle se situe entre 2 et 9 mm.

Un follicule déjà entré dans le cycle à 10–12 mm à J3 est un critère péjoratif (asynchronisme hormonal). La courbe de Gauss des tailles folliculaires doit être harmonieuse.

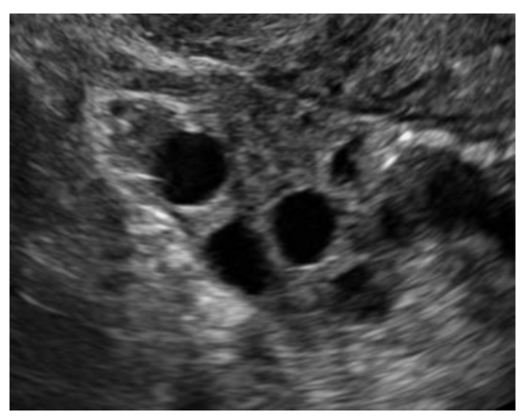


Figure 4.1 **Ovaire siège de follicules de forme régulière, arrondis, toniques.**

Aspect et répartition (figure 4.2)

Sphériques ou ovalaires, atones ou toniques : ces aspects peuvent permettre de donner des indications indirectes sur un éventuel remaniement du stroma ovarien qui peut être post-inflammatoire, fibrocicatriciel, ou témoigner de stigmates d'endométriose.

Stroma ovarien : le volume ovarien

Il intervient en grande partie dans le volume ovarien : stroma = volume global – follicules. Son aspect échographique est légèrement hyperéchogène (riche en tissu fibroconjonctif). Si l'hyperéchogénicité augmente, le stroma est alors de type fibreux et cet aspect est peu favorable (comme par exemple dans les ovaires polykystiques ou OPK). Son volume (entre 3 et 6 cm^3 chez une femme en période de fertilité) est proportionnel au petit axe ovarien. On peut y trouver des calcifications, des implants endométriosiques, voire des inclusions dermoïdes (figure 4.3). Une abondance et une

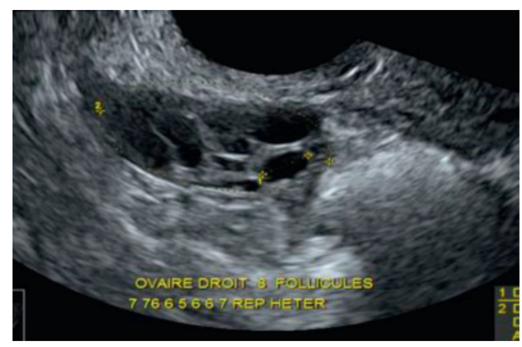


Figure 4.2 **Ovaire siège de follicules de forme irrégulière, étirés, polyédriques.**

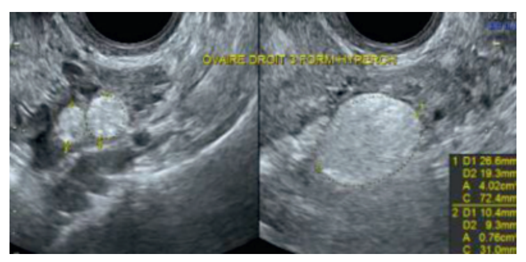


Figure 4.3 **Image hyperéchogène (formation blanche) sans cône d'ombre évoquant la présence de poils, dents, cheveux (inclusions dermoïdes).**

échostructure optimale du stroma ovarien ont une bonne corrélation au CFA.

Modélisation des principales pathologies responsables de l'infertilité d'origine ovarienne

L'analyse des pathologies ovariennes impliquant la fertilité (hors kystes et tumeurs) peut s'évaluer grâce à la conjugaison entre l'aspect et le nombre des follicules et l'aspect et le volume du stroma ovarien. Ainsi, les différentes pathologies sont résumées dans le tableau 4.1.

Trop de follicules : les dystrophies ovariennes

Dystrophies micropolykystiques (OPK)

Les dystrophies micropolykystiques prennent souvent place au sein d'un syndrome métabolique (hyperandrogénie, hyper-LH, hyperinsulinémie–dysfonctionnement thyroïdien) [3, 4].

Les signes suivants sont relevés :

- augmentation de taille, fréquente mais parfois asymétrique (30 % des cas) : elle s'apprécie de préférence par le calcul de la surface ovarienne : $L \times l \times 0,8 > 6$ cm²;
- élévation de l'index de sphéricité ($l/L > 0,7$) : le petit axe de l'ovaire est proportionnel au volume stromal ;
- inversion du rapport U/O plus gros qu'une coupe du fond utérin ;
- attention : en cas d'asymétrie, il faut penser au fibrothécome centro-ovarien, difficile à différencier du stroma, en cas de doute → IRM ;
- follicules : nombre > 10–20/ovaire; taille < 5 mm ; répartition à prédominance périphérique (figure 4.4) ;
- stroma : il existe une hypertrophie stromale centrale hyperéchogène, souvent corrélée à l'hyperéchogénicité de l'endomètre. Cette hypertrophie stromale peut, lorsqu'elle est majeure, aboutir à l'hyperthécose : ovaire sphériques et microkystes tassés sous l'albuginée (au maximum, syndrome de Stein-Leventhal).
- Dopplers de l'artère utérine : élévation des résistances fréquente, témoin de l'hyperandrogénie.

Dystrophies multifolliculaires (OMF)

Les signes suivants sont relevés :

- ovaires de taille normale : $L \times l \times 0,8 < 6$ cm² ;
- index de sphéricité normale < 0,7 ;
- follicules en général moins nombreux que pour les OPK > 10–15/ovaire (microfollicules immatures) ; de taille variable, entre 4 et 10 mm (pas d'hyperpression stromale fibreuse) ; on note une répartition ubiquitaire des follicules occupant tout le parenchyme ovarien (figure 4.5) ;

Tableau 4.1 Ovaire et fertilité : une approche en fonction des modalités excrétoire et sécrétoire.

Follicules / Stroma	Volume augmenté	Normal	Volume diminué	Abîmé ou remanié
Trop de follicules	OPK	OMF	OMF	Endométriose
Nombre de follicules dans les limites de la normale	OPK	Normal	Atrophie Médullo-stromale	Endométriose Séquelles inflammatoires
Pas assez de follicules	OPK vieillies	IOP	Ménopause	Endométriose Séquelles inflammatoires
Follicules abîmés ou remaniés, polyhédriques	OPK Endométriose Séquelles inflammatoires	Endométriose Séquelles infectieuses	Endométriose	Endométriose Séquelles inflammatoires

IOP : insuffisance ovarienne prématurée ; OMF : ovaires multifolliculaires ; OPK : ovaires polykystiques.



Figure 4.4 Ovaire multifolliculaire.
Pas d'augmentation de la superficie ovarienne. Les follicules sont sans topographie précise, occupant à la fois la périphérie et le centre de l'ovaire.



Figure 4.5 Ovaire polykystique.
Augmentation de la superficie ovarienne, les follicules prédominent en périphérie.

- stroma : stroma normal voire hypotrophique; endomètre fin quel que soit le moment du cycle. Les Dopplers retrouvent une hypovascularisation stromale. Les Dopplers de l'artère utérine retrouvent habituellement une importante élévation des résistances, témoin de l'hypo-estrogénie.

Cas frontières

Images intermédiaires entre les deux entités.

> **Note technique : l'aide au comptage folliculaire par le sono AVC (figure 4.6)**
>
> - Principe de visualisation fondé sur la détection des interfaces solide–liquide.
> - Aide au comptage des follicules, surtout intéressant en cours de stimulation.
> - Permet une standardisation des examens (moins opérateur dépendant).
> - Évite le double comptage du même follicule.



Figure 4.6 Comptage folliculaire avec sono AVC.

> **Les sous-estimations du comptage**
>
> - Patientes obèses : forte absorption des ultrasons minorant le nombre des petits follicules.
> - Ovaires haut situés, accessibles uniquement par voie abdominale.
> - Refoulement ovarien par utérus polyfibromateux.
> - Ovaires masqués par gaz digestifs.

Trop peu de follicules : les insuffisances ovariennes

Insuffisance ovarienne occulte (*occult premature ovarian failure* ou oPOF)

Elle est idiopathique dans 75 % des cas (figure 4.7).

Elle se caractérise par l'anomalie de la formation du *pool* folliculaire, une déplétion folliculaire précoce et le blocage de la maturation folliculaire. Les cycles sont normaux ou ont tendance au raccourcissement : AMH *(anti-mullerian hormone)* basse, FSH *(follicle-stimulating hormone)* encore normale.

Les aspects échographiques (différents d'un ovaire périménopausique) suivants sont relevés :

- volume médullo-stromal conservé ou réduit (< 3 cm^3 pour le volume et < 2,5 cm^2 pour sa surface);
- normo- ou pauci-folliculaire (moins de 5 follicules/ovaire) : augmentation des follicules de grande taille (> 7–8 mm à J3);
- hypovascularisation médullo-stromale au Doppler.

Insuffisance ovarienne précoce (*premature ovarian failure* ou POF)

Elle conduit à une ménopause précoce avant 40 ans (figure 4.8).

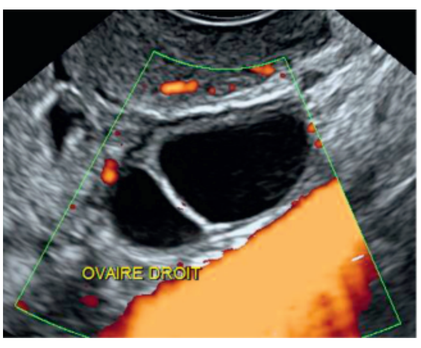




Figure 4.7 Insuffisance ovarienne occulte précoce : atrophie stromale et follicules trop gros pour un début de cycle.

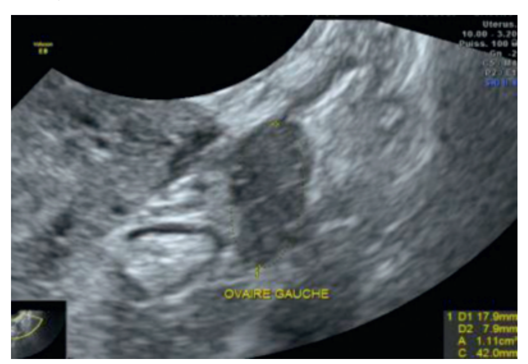


Figure 4.8 Ovaire ménopausique afolliculaire.
L'ovaire est de petite taille, l'échostructure homogène. On note quelques follicules de 1 à 2 mm.

Elle se caractérise souvent par une aménorrhée secondaire : FSH > 40 UI/mL sur deux dosages à 1 mois d'intervalle.

Les aspects échographiques suivants sont relevés :

- atrophie synchrone du médullo-stroma (diminution du petit axe ovarien) et de la zone de production folliculaire [5] ;
- hypovascularisation médullo-stromale au Doppler ;
- baisse du nombre des follicules antraux à J3 ;
- macrofollicules anovulatoires. Décalage de la courbe de Gauss des tailles folliculaires vers la droite ;
- endomètre atrophique quel que soit le moment dans le cycle ;
- Doppler artères utérines : résistances diastoliques élevées.

Dysovulations intermittentes

Elles résultent de la croissance excessive d'un ou plusieurs follicules avec ou sans transformation en corps jaune. Elles surviennent dans 5 à 10 % des cycles normaux. Elles sont plus fréquentes lors des cycles d'induction d'ovulation.

Leur principale composante clinique est la douleur pelvienne avec ou sans dysovulation.

Ces anomalies, dites fonctionnelles, rentrent normalement dans l'ordre en un à deux cycles.

Elles peuvent être évoquées par :

- la croissance excessive d'un follicule : kyste folliculaire (figure 4.9) :
- la lutéinisation d'un follicule sans ovulation (*luteinized unruptered follicle syndrome* ou LUF syndrome ; figure 4.10).

Les aspects échographiques suivants sont relevés :

- non disparition du follicule en seconde partie de cycle, parfois importante augmentation de volume, jusqu'à 4 à 5 cm de diamètre à contenu échogène de type « nids d'abeilles », témoignant d'une hémorragie intrafolliculaire [6] ;
- pas d'épanchement dans le Douglas ;
- apparition d'un endomètre sécrétoire ;
- épaississement de la paroi folliculaire (5 à 6 mm) ;
- hypervascularisation périphérique au Doppler ;
- baisse des résistances vasculaires diastoliques aux Dopplers utérins.

Endométriose

Définition et modes de retentissement sur la fertilité

C'est une pathologie de la femme jeune, fréquente, qui entraîne principalement des douleurs à type de dysménorrhées et des dyspareunies mais aussi défécation douloureuse ou dyschésie, dysuries, douleurs lombaires et abdominales péri-ombilicales. Certaines formes sont asymptomatiques.

Elle intervient à différents niveaux anatomiques et fonctionnels de la fertilité féminine, perturbant

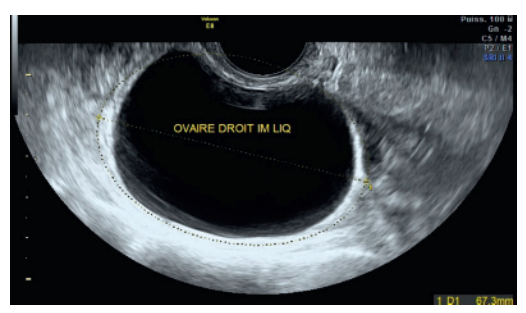


Figure 4.9 **Formation liquidienne pure, occupant toute la superficie de l'ovaire correspondant à un macrofollicule.**

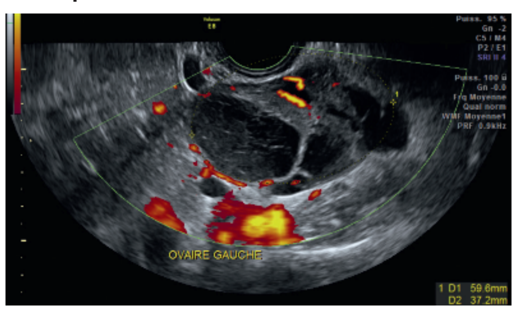


Figure 4.10 **Kyste lutéo-hémorragique de l'ovaire, de type « nid d'abeille ».**
Il s'agit d'un kyste fonctionnel avec hémorragie intrakystique. Parois fines et régulières sans végétations à contenu floconneux, sérofibrineux.

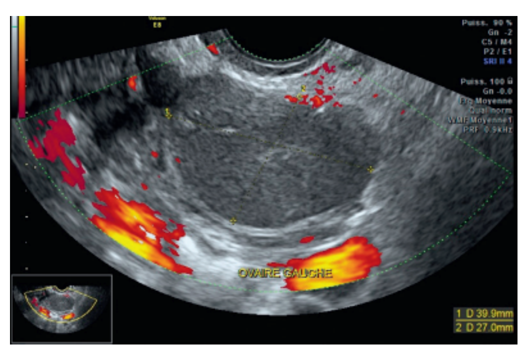


Figure 4.11 **Kyste endométriosique ovarien avec contours externes arrondis, sans zone rigide avec des contours internes lisses et réguliers, la paroi est assez épaisse.**
Le kyste n'est pas cloisonné; le contenu est homogène avec des échos de faible brillance répartis de façon uniforme.

la production des gamètes (gêne à l'ovulation, causes mécaniques), leur transport (réactions inflammatoires pelviennes) et la nidation (mauvaise qualité ovocytaire–adénomyose associée).

Son imagerie, dominée en première intention par l'échographie, est difficile, longue et parfois douloureuse, fluctuante en fonction des moments du cycle, nécessitant le recours à des opérateurs entraînés. La sémiologie en est souvent subtile, reposant sur des signes à peine visibles ou difficilement systématisables.

Où chercher les signes en imagerie ?

Endométriose ovarienne (figure 4.11)

L'ovaire constitue la « première étape du reflux endométrial » : kystes hémorragiques ovariens de taille variable (quelques millimètres à plusieurs centimètres), ***kissing ovaries***, à coque épaisse [7].

Les caractéristiques de ce kyste sont les suivantes :

- pseudo-kyste, car il n'a pas de paroi cellulaire propre;
- siège stromal, central et non pas périphérique : ce n'est pas un follicule hémorragique, mais une greffe de muqueuse endométriale ectopique !
- hypo-, iso- ou hyperéchogène;
- contours géographiques, parois épaisses : la compression « mécanique » de l'ovaire et des follicules retentit sur la qualité ovocytaire des follicules restants;
- classiquement avasculaire, mais couronne vasculaire périphérique possible par compression d'une des branches du pédicule ovarien;
- parfois hétérogène – secteurs hyperéchogènes (coexistence de saignements d'âges différents) :
  - évolution dans le temps : de plus en plus échogènes avec tendance à la réduction de taille; stade terminal : micro-implants calcifiés,
  - conséquences : remaniement, compression folliculaire, fonction ovarienne perturbée, CFA difficile.

Endométriose superficielle ou péritonéale

Les implants ne s'étendent pas au-delà de 5 mm de la surface du péritoine :

- localisations les plus fréquentes : ligaments larges et cul-de-sac de Douglas;
- localisation utérines par voie sous-séreuse : masses à limites floues pouvant simuler des myomes sous-séreux, mais contours mal définis et pas d'encorbellement vasculaire.
  Il est nécessaire de vérifier les trompes;
- calcifications sous téquales ovariennes périphériques : entre 1 et 3 mm de diamètre témoignant d'implants péritonéaux.

Endométriose profonde ou sous-péritonéale (figure 4.12) [8]

Les implants pénètrent à plus de 5 mm en profondeur. Les localisations les plus fréquentes sont :

- espace sous-péritonéal postérieur : cul-de-sac de Douglas (extension sous-péritonéale), ligaments utéro-sacrés, torus utérinum, dôme vaginal, paroi antérieure du rectum, cloison recto-vaginale, uretères lombaires ;
- espace sous-péritonéal antérieur : cul-de-sac intervésico-utérin, paroi vésicale ;
- colonisation de cicatrice de césarienne, toute cicatrice cutanée (endométriose sous-cutanée), canal de l'Ouraque.

Adénomyose [9]

L'adénomyose est :

- quasi physiologique après 35 ans, favorisée par les grossesses successives ;
- pathologique chez la femme jeune : elle s'apparente alors à une véritable « endométriose utérine », par effractions itératives de la lame basale, et envahissement progressif de la zone jonctionnelle.

  Il en existe deux formes :
- diffuse :
  - infiltration, remaniement et épaississement diffus de la zone jonctionnelle,
  - pas d'encorbellement vasculaire au Doppler,
  - souvent compliquée de cryptes para-endométriales ;
- localisée, pouvant être confondue avec un myome :
  - plages hyper- ou hypo-échogènes mal circonscrites de la zone jonctionnelle ou du myomètre périphérique,
  - pas d'encorbellement vasculaire,
  - pas de net effet de masse sur la cavité utérine,
  - pas de limite nette,
  - dans les formes périphériques, peut être confondue avec des localisations d'endométriose sous-séreuse, nosologiquement très proches.

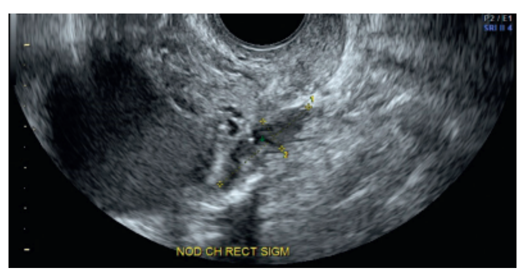


Figure 4.12 Échographie endovaginale retrouvant une volumineuse lésion hypo-échogène développée au sein de la paroi rectale typique d'endométriose digestive.

Quand demander l'IRM ?

- Lorsqu'on n'arrive pas à étudier exhaustivement les zones pathologiques soupçonnées à l'échographie.
- Lorsqu'il existe une symptomatologie sans image échographique évidente, dans les bilans préopératoires.
- En cas d'endométriose digestive.

Transport des gamètes : les annexes

Trente à 40 % des infertilités sont d'origine tubo-péritonéale.

L'examen le plus indiqué est l'hystérosalpingographie (HSG). L'échographie reste indispensable.

Pathologie tubaire proximale

- Endométriose : 30 % des cas.
- Post-infectieuses (*Chlamydiae* ++, tuberculose génitale).
- Post-chirurgicales.
- Polype endométrial faisant saillie dans la portion interstitielle de la trompe.

Aspects hystérosalpingographiques

- Multiples images diverticulaires communiquant avec la lumière tubaire entraînant un renflement nodulaire de la trompe par réaction pariétale et péritubaire fibreuse.
- Typiquement aspect en « boule de gui », en « buisson », ou « en grappe » (salpingiose nodulaire ou salpingite isthmique nodulaire).
- Aspect rigide érectile en corne de taureau des portions proximales : « tuba erecta » (endométriose).
- Aspect en fil de fer ou en ligne brisée de la trompe (tuberculose génitale) [10].

Pathologie tubaire distale : hydrosalpinx, hématosalpinx (figure 4.13)

- Endométriose : 30 % des cas.
- Tuberculose génitale, post-infectieuse (*Chlamydiae* ++), post-chirurgicale.



Figure 4.13 **Phimosis tubaire : rétention ampullaire du produit de contraste liée à des adhérences annexielles ; passage tubo péritonéal conservé.**

Aspects radiologiques

- Dilatation (flexueuse ou sacciforme) de la portion ampullaire et du pavillon de la trompe progressive en cours d'examen.
- Attenuation voire perte du plissement muqueux longitudinal de la portion ampullaire de la trompe (signe de l'ancienneté de l'obstruction – mauvais pronostic).
- Sédimentation du produit de contraste en position debout.
- Pas de passage tubo-péritonéal même sur les clichés tardifs. *N.B.* phimosis tubaires : rétrécissement de l'extrémité ampullaire de la trompe laissant passer de manière lente, en « goutte à goutte » le produit de contraste, souvent découvert sur les clichés tardifs.
- Dans les formes minimes, simple stagnation ampullaire du produit de contraste sur les clichés tardifs (dysfonctionnement tubaire distal).

Aspects échographiques (figure 4.14)

Un hydrosalpinx se présente comme une image liquidienne oblongue, serpigineuse, incluant des cloisons incomplètes (plissements muqueux), d'abord latéro-utérine puis se recourbant en arrière de l'utérus vers le cul-de-sac de Douglas [11]. Il est :

- souvent fixé par des adhérences à la paroi pelvienne, parfois libre ;
- souple et indolore à l'échopalpation ;
- souvent mieux visible en seconde partie de cycle (variation intracycle du degré de remplissage).

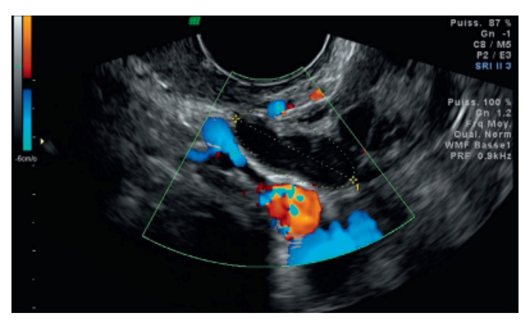


Figure 4.14 **Dilatation de la trompe prenant la forme d'une collection oblongue ou kystique avec disparition des plis de la muqueuse.**

Diagnostic différentiel avec les kystes paratubaires (figure 4.15) [12]

Les kystes paratubaires présentent les caractéristiques suivantes :

- ils peuvent être confondus avec des kystes ovariens à développement exo-ovarien voire avec des hydrosalpinx en cas de forme oblongue ;
- origine constitutionnelle : développés aux dépens des reliquats embryonnaires du canal de Wolf ;
- ils siègent le long de la trompe ;
- sphériques, à parois fines, ils se mobilisent de manière indépendante de l'ovaire sous la sonde d'échographie ;
- ils sont stables lors des contrôles successifs ;
- ils sont à signaler dans les comptes rendus car peuvent gêner une éventuelle ponction.

Diagnostic différentiel avec adhérences péritubaires

- Le plus souvent dépistées par des signes indirects : ovaires para-utérins, accolés à l'utérus, sans plan de clivage net, blindage viscéral dynamique.
- Antécédents d'intervention chirurgicale.

La nidation : l'utérus

La possibilité de diagnostiquer des anomalies spécifiques de la cavité endométriale dépend directement de la phase du cycle menstruel au moment de l'examen.

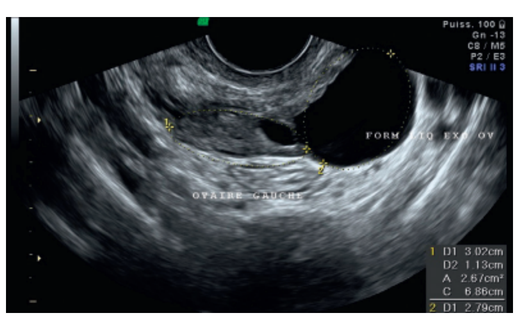


Figure 4.15 Kyste uniloculaire, à paroi fine, sans végétations endophytiques et sans épanchement péritonéal en dehors de l'ovaire.

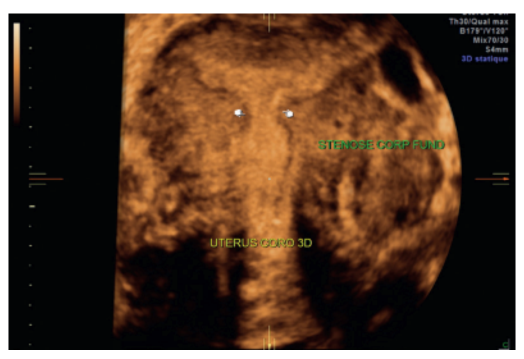


Figure 4.16 Utérus de type DES, petite cavité avec un rétrécissement circonférentiel corporéo-isthmique, en « T ». Coupe coronale.

Ce qu'il faut voir ! Ce que l'on doit chercher !

L'échographie pelvienne, en particulier par voie endovaginale, marque la première étape dans l'étude de la cavité utérine. L'utilisation de plus en plus fréquente de l'hystérosonographie avec contraste de sérum physiologique améliore cette technique en donnant souvent un diagnostic rapide et précis.

La cavité utérine est constituée de trois parties pouvant être étudiées en échographie :

- portion cervicale ;
- portion corporéale ;
- portion fundique incluant la partie interstitielle des trompes.

Mensurations. À l'âge adulte la longueur de l'utérus varie entre 50 et 80 mm (nullipare et multipare) avec un rapport corps/col > 1. On devra soupçonner une hypoplasie si la longueur de l'utérus est inférieure à 50 mm (mesure prise de l'orifice externe du col au fond myométrial) et la distance intercornuale est inférieure à 40 mm (reconstruction 3D). C'est souvent le cas des utérus des patientes porteuses d'un syndrome de Turner, ou des utérus de type Distilbène (figure 4.16), ou plus généralement d'une hypo imprégnation hormonale.

Col utérin

L'étude du col utérin, malheureusement pas toujours effectuée, reste d'une importance primordiale lors qu'on réalise un bilan de fertilité en prévision d'une procréation médicalement assistée (PMA).

Cette étude permet de signaler :

- la présence de kystes de Naboth : s'ils sont volumineux, ils peuvent constituer une gêne au transfert, d'où l'intérêt dans ces cas de réaliser un « trasnfert d'essai » *(trial transfer)* ;
- la présence d'un myome ou d'un polype accouché par le col ;
- un trajet difficile (pour guider un éventuel transfert d'embryon) : mesurer l'angle col/corps ;
- la cicatrice de césarienne et son éventuelle déhiscence (mesurer l'épaisseur de la paroi résiduelle, la distance à l'orifice externe) et la présence de kystes (figure 4.17) ;
- la présence de glaire signifiant que l'on se trouve dans la période péri-ovulatoire (corrélation avec l'aspect de l'endomètre, aide à la décision du déclenchement).

Corps utérin

Cavité

Elle n'est pas visible en échographie (cavité virtuelle), sauf en période menstruelle où elle peut être visible, le liquide silhouettant les caillots, ou en cas d'hématométrie.

Même si elle n'est pas visible, un certain nombre de pathologies endocavitaires sont détectables par échographie du fait du contraste naturel avec l'endomètre. Ce contraste est optimal en première partie de cycle. Sont particulièrement bien visibles les polypes, formations hyperéchogènes se détachant bien de l'endomètre hypo-échogène, silhouettées par un épanchement ou signalées par un spot vasculaire.

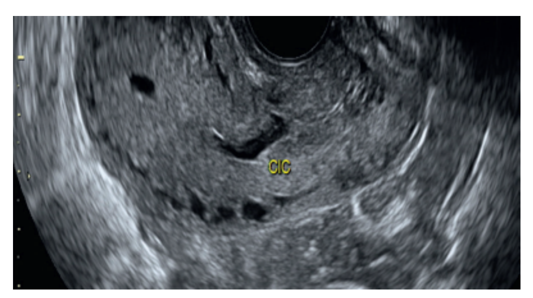


Figure 4.17 Cicatrice de césarienne. On peut mesurer le myomètre résiduel en regard.

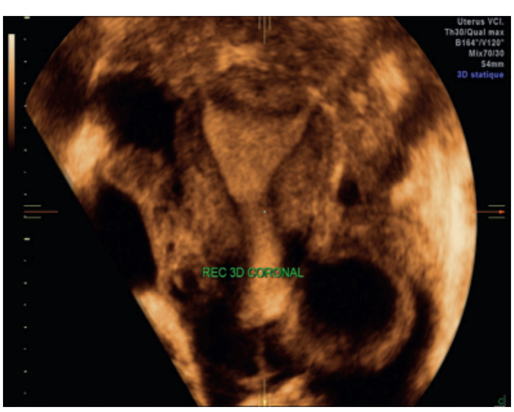


Figure 4.18 Visualisation de la cavité utérine dans sa totalité avec la portion interstitielle des trompes. Coupe coronale.

Les synéchies, accolements cavitaires antéropostérieurs ou marginaux, sont moins bien étudiables, parfois identifiables sous la forme de stops cavitaires.

Les reconstructions 3D rendent plus sensible l'étude de la cavité, permettant une sommation d'images difficilement réalisable en 2D, où l'épaisseur de coupe n'est pas modulable par l'opérateur. L'accès à une vision verticale ou coronale de la cavité utérine permet en outre une meilleure localisation des lésions, offrant une vision anatomique voire hystéroscopique (figure 4.18).

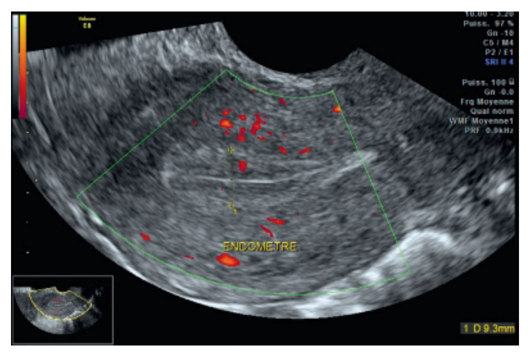


Figure 4.19 Endomètre en première partie de cycle.

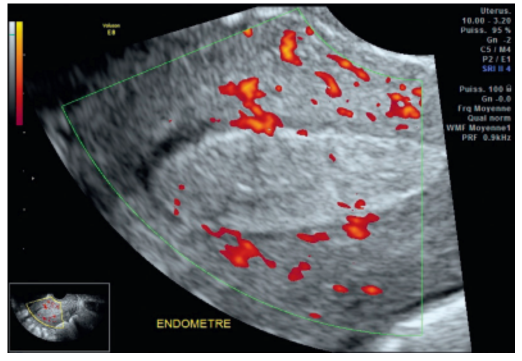


Figure 4.20 Endomètre en seconde partie de cycle.

Endomètre

La corrélation entre l'épaisseur endométriale et son aspect par rapport à la phase du cycle menstruel est à la base de la surveillance et l'adaptation des traitements de stimulation. Le changement lié à la sensibilité aux hormones se traduit par des modifications de son épaisseur, de son volume et son échogénicité (figures 4.19 et 4.20) [13].

Technique. L'endomètre doit être suivi tout au long de la cavité, sur une coupe longitudinale parfaite. On effectue la sommation de ses deux faces antérieure et postérieure. En période menstruelle, il est desquamatif et son étude est d'un intérêt faible. *Attention :* l'aspect de l'endomètre peut varier en fonction de l'axe utérin, prenant à défaut la voie endovaginale lorsque l'axe utérin est trop oblique par rapport à l'angle d'attaque des ultrasons, on s'aidera alors de la voie sus-pubienne.

Épaisseur. En phase proliférative (sécrétion d'œstrogènes), l'endomètre augmente progressivement de volume, pour parvenir à une épaisseur entre 7 et 9 mm le jour du pic de LH *(luteinizing hormone)*. Une épaisseur inférieure à 7 mm est corrélée à une diminution de chance de grossesse. En seconde partie de cycle, l'endomètre peut mesurer entre 12 et 14 mm au niveau fundique pour ses deux faces.

Volume. La mensuration du volume ne rentre pas dans le cahier des charges d'une échographie de routine, mais plutôt dans celui d'une échographie de bilan après échec d'implantation. Ce type d'examen est demandé vers J20 du cycle.

En utilisant le mode VOCAL on peut reconstruire le volume précis d'une zone délimitée. La grossesse est directement corrélée à un volume entre 4,9 +/− 2,2 cm^3. En cas de volume inférieur à 1 cc, le taux de grossesse est quasiment nul [14, 15].

Échostructure. Pendant la phase proliférative (sous la sécrétion des estrogènes), l'endomètre idéal est en triple ligne avec une ligne hyperéchogène centrale entourée de deux couches hypo-échogènes « en grain de café ». Un aspect hyperéchogène est de mauvais pronostic.

L'endomètre devient physiologiquement hyperéchogène en phase sécrétoire (déterminée par la sécrétion de progestérone). L'endomètre change progressivement son aspect depuis sa zone basale jusque vers la cavité à partir de 48 h après l'ovulation, devenant entièrement sécrétoire en 4 à 7 jours.

Vascularisation. On note une augmentation du flux les jours précédant l'ovulation, suivie par un deuxième pic 3 jours plus tard. Ces variations démontrent qu'il existe une régulation spécifique pour préparer la réceptivité endométriale. Les vaisseaux en provenance de la zone jonctionnelle peuvent alors pénétrer dans l'endomètre jusqu'au niveau de la ligne cavitaire : ces aspects témoignent d'une réceptivité endométriale optimale.

Myomètre et zone jonctionnelle

On peut séparer le myomètre en deux secteurs : le myomètre périphérique et la zone jonctionnelle, qui est la portion de myomètre adjacent à l'endomètre (ou zone sub-endométriale du myomètre d'origine müllerienne) [16].

Ce sont plus particulièrement les atteintes de la zone jonctionnelle qui sont susceptibles de retentir sur la nidation.

Aspect échographique

On l'identifie comme une zone hypo-échogène de 5 mm. Cette zone, qui n'était visualisable que par IRM, est aujourd'hui facilement identifiable lors l'échographie pelvienne, en particulier grâce à l'échographie 3D (phénomènes de sommation spatiale). Son épaisseur peut varier au cours de la vie génitale, pouvant s'épaissir après 35 ans ou s'atrophier en cas de contraception prolongée ou d'hypo-œstrogénie.

Atteintes pathologiques

Adénomyose

L'adénomyose, forme utérine de l'endométriose (voir précédemment), correspond à la présence diffuse ou focale de tissu de la couche basale de l'endomètre à l'intérieur du myomètre entouré d'une prolifération de cellules muscles lisses [17].

En cas d'adénomyose cette zone apparaîtra déviée, remaniée, épaissie, siège de plusieurs petites formations anéchogènes, représentant les cryptes adénomyosiques, expression échographique de kystes sub-endométriaux.

N.B. En cas d'endométriose, on pourra trouver à cheval entre le myomètre périphérique et la séreuse, des formations hypo-échogènes, parfois siège d'une vascularisation diffuse, correspondant à des implants sous-séreux localisés d'endométriose de mécanisme rétrograde.

Myomes

Ils sont les lésions myométriales les plus fréquentes : on les retrouve chez 20 à 50 % des femmes en âge de procréer. Ce sont des tumeurs bénignes développées à partir des fibres musculaires et de cellules conjonctives constitutives du myomètre. Ils sont entourés d'une pseudocapsule de nature vasculaire. Ils interfèrent de manière significative avec la fertilité lorsqu'ils présentent un dôme sous-muqueux. Ils altèrent alors le transport de sperme et interfèrent avec l'implantation. Ils sont associés à la survenue de fausse couche spontanée (FCS). Face à un utérus myomateux, on devra en dresser la cartographie : détailler le nombre et la topographie des myomes (sous-muqueux, intramuraux et sous-séreux) [18].

Myomes intracavitaires et polypes

Quand un myome est intracavitaire (myome de grade 0 ou 1 de la FIGO), il est parfois difficile d'en faire la distinction avec un polype, d'autant que le polype peut apparaître iso-échogène au myomètre.

Les aspects à rechercher pour faire le diagnostic différentiel à l'échographie sont présentés dans le tableau 4.2.

Cas particulier des myomes en nécrobiose et calcifiés

Les calcifications intra-myomateuses sont fréquentes, isolées ou en amas, circonférentielles ou

Tableau 4.2 Polype et myome sous-muqueux : diagnostic différentiel.

	Polype	Myome sous-muqueux
Échostructure	Plus souvent hyperéchogène	Plus souvent hypo-échogène
Bridge edge liseré endométrial	Présent	Absent
Cône d'ombre postérieur	Absent	Présent
Morphologie	Ovoïdale	Arrondie
Compressibilité	Minime	Absente
Doppler	Pédicule vasculaire	Encorbellement vasculaire

centrales. Les myomes calcifiés sont particulièrement observés en cas d'antécédents d'embolisation. La nécrobiose se révèle comme un «infarcissement» de la partie centrale du myome qui apparaît anéchogène, liquidienne.

Zone jonctionnelle cicatricielle

L'exploration du myomètre doit tenir compte des antécédents : en cas de séquelles d'intervention pour myome, on pourra retrouver un myomètre hétérogène, hyperéchogène, incluant des zones cicatricielles, faiblement vascularisées au Doppler. Ces modifications cicatricielles peuvent retentir sur la nidation et sur l'endomètre, par exemple par la création de synéchies ou de «locus minor resistanciae», secteurs atrophiques de l'endomètre de type cicatriciel et retractile, ou par hypovascularisation.

Fond utérin

Le fond utérin et la portion interstitielle des trompes sont mieux visualisables sur la reconstruction 3D.

En étudiant le fond utérin, on peut parfois retrouver des images de stop cavitaire, correspondant à un accolement des parois utérines, évocatrices de synéchie. Une asymétrie des portions cornuales ou des cornes à «tuba erecta» peuvent être également des signes d'endométriose : les trompes peuvent apparaître normales, asymétriques évoquant une synéchie (stop cavitaire), ou de type «tuba erecta» évoquant une endométriose.

La reconstruction 3D de l'utérus dans une coupe frontale permet une vision simili-hystéroscopique. Sur le même plan, on arrive à étudier le fond, le corps et le col.

Malformations

Les malformations utérines sont retrouvées chez 5,5 % des femmes fertiles, 8 % des femmes infertiles, 13 % des femmes ayant eu une FCS et 25 % des femmes souffrant de FCS à répétition. La plupart des malformations utérines peuvent être expliquées par un défaut ou un arrêt du développement survenu lors des trois phases de développement du système génital féminin :

- l'absence de migration ou la migration caudale incomplète des canaux de Müller vers le sinus urogénital sont responsables d'atrésies et/ou d'aplasies utérines, complètes ou non ;
- un défaut de fusion des canaux de Müller conduit à une duplication utérine (utérus didelphe, utérus bicorne) ;
- un défaut de résorption de la cloison intermüllerienne conduit à un utérus cloisonné et *a minima* aux fonds arqués.

Les malformations les plus fréquentes découvertes à l'occasion des bilans d'infertilité sont l'utérus cloisonné, l'utérus bicorne, l'utérus de type DES avec sa cavité en «T» caractéristique, utérus unicorne.

Utérus cloisonnés et bicornes

L'utérus cloisonné est la plus fréquente des malformations d'origine müllerienne (55 %). L'utérus bicorne monocervical est bien moins fréquent (10 %). L'utérus bicorne bicervical est encore plus rare (5 %).

L'hystérographie ne permet pas de différencier avec certitude un utérus cloisonné d'un bicorne. Seule la reconstruction 3D échographique coronale permet de répondre à la question. Or cette différenciation est fondamentale pour la prise en charge des patientes. En effet, les utérus cloisonnés peuvent être pris en charge chirurgicalement avec section de la cloison, permettant ainsi d'améliorer le pronostic obstétrical des patientes avec une diminution des FCS.

Les critères diagnostiques les plus importants sont : la forme de la cavité et la morphologie de

la séreuse et du col. La classification de Woelfer *et al.* de 2001 est pratique, car elle définit la différence entre utérus cloisonné et bicorne par la présence d'une incisure de la séreuse de hauteur égale ou inférieure à 10 mm sur la reconstruction 3D coronale (figure 4.21).

Le groupe de travail CONUTA ESHRE/ESGE a réalisé en 2013 une nouvelle classification en étudiant séparément l'utérus (U), le cervix (C) et le vagin (V) [19, 20]. Avec cette classification l'utérus cloisonné est diagnostiqué par la présence d'une incisure de la séreuse que ne dépasse pas 50 % du myomètre fundique. Et au contraire, l'utérus sera bicorne s'il présente une incisure de la séreuse profonde représentant plus de 50 % du myomètre fundique.

L'association des malformations utérines et des malformations rénales est bien connue.

En cas d'utérus bicorne, elle est fréquente (30 % si utérus bicervical). En cas d'utérus cloisonné, la fréquence rejoint celle de la population générale.

L'hystérosonographie (HSO) constitue un complément efficace pour le diagnostic, permettant une évaluation précise de la cloison (longueur de l'éperon, longueur inter-ostiale et marge de sécurité avec le fond). En cas d'utérus bicorne, l'HSO permet d'apprécier les dimensions et la distensibilité des deux cavités en suggérant au clinicien la cavité la plus apte à accepter l'éventuel transfert d'embryon (figure 4.22).

Utérus unicorne

On retrouve un fond très latérodévié, un volume utérin réduit, avec un aspect en flammèche à la reconstruction 3D (figure 4.23).

Utérus DES et hypoplasiques

La longueur utérine est souvent inférieure à 50 mm, la mesure hystérométrique étant souvent encore plus péjorative. À la reconstruction 3D, la cavité présente une forme en « T » avec rétrécissement circonférentiel corporéo-isthmique et, souvent, remaniement hétérogène fibrorétractile de la zone jonctionnelle en regard.

Hystérosonographie

Examen idéal dans le diagnostic des pathologies intra-utérines, l'HSO est réalisée grâce à l'injection intracavitaire de sérum physiologique (figure 4.24) [21].

Il s'agit d'un examen simple, indolore et facilement reproductible, complément à l'échographie « sans préparation ». Elle permet une exploration simultanée de la cavité utérine, de la face interne de l'endomètre et de la paroi utérine jusqu'à la séreuse, au cours d'un même examen.

Le meilleur moment pour réaliser une hystérosonographie est la phase folliculaire, entre J6 et J10 du cycle, en l'absence de saignement.

Étude du col

L'HSO peut apporter des renseignements par rapport au mur myométrial résiduel de la cicatrice de la césarienne ; elle peut le mesurer précisément, et mettre en évidence un isthmocèle non visualisé à l'échographie pelvienne standard.

Par ailleurs, en utilisant un cathéter, elle peut être utile dans la découverte et la description d'un trajet cervical « difficile » en vue d'un transfert.

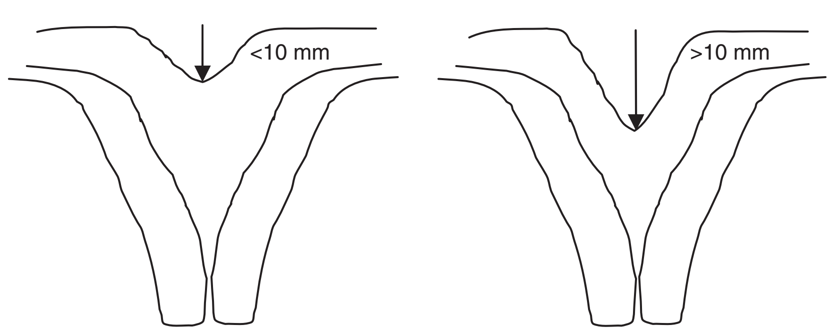


Figure 4.21 Mesure de l'incisure séreuse pour différencier utérus bicorne (à droite) *versus* utérus cloisonné (à gauche).

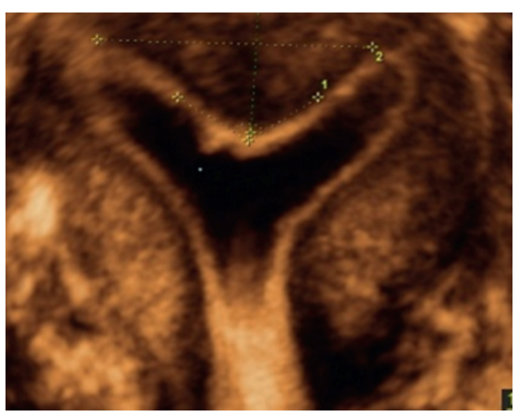


Figure 4.22 Utérus avec septum : coupe coronale. On peut apprécier les dimensions du septum.

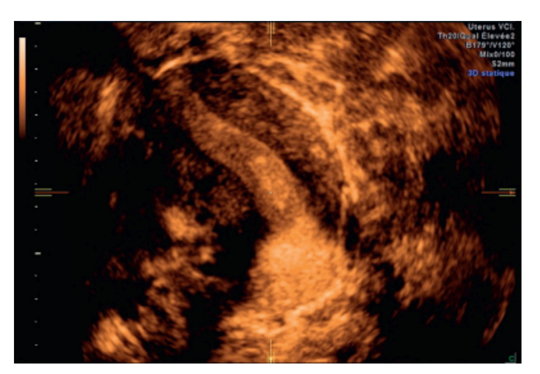


Figure 4.23 Aspect de la cavité à « flammèche » typique de l'utérus unicorne (ici avec un polype intracavitaire). Coupe coronale.

Synéchie

Si la synéchie est suspectée lors de l'échographie par la découverte d'un « stop » cavitaire sur l'endomètre, l'HSO est plus performante pour la localisation et l'extension de la synéchie. Elle permet également de fournir une image simili-hystéroscopique de la cavité. Les images ainsi obtenues peuvent guider aisément le chirurgien. L'HSO peut également trouver sa place quand l'hystéroscopie n'est pas réalisable comme dans les cas où la synéchie très bas située (figure 4.25).

Polype, myome et hyperplasie de l'endomètre

L'HSO permet de faire aisément le diagnostic différentiel entre une hypertrophie endométriale et un polype.

En cas de fibrome, elle permet de bien préciser la localisation, le degré d'invasion intracavitaire, l'angle de raccordement avec la muqueuse adjacente et le mur postérieur de sécurité (au moins 5 mm) pour guider une éventuelle intervention chirurgicale (figures 4.26 et 4.27).

Adénomyose

L'HSO permet également de recueillir des informations sur la zone jonctionnelle. Souvent on observe, simultanément à l'injection, le remplissage de cryptes adénomyosiques même dans les utérus qui ne montraient pas à l'échographie d'adénomyose franche (figure 4.28).

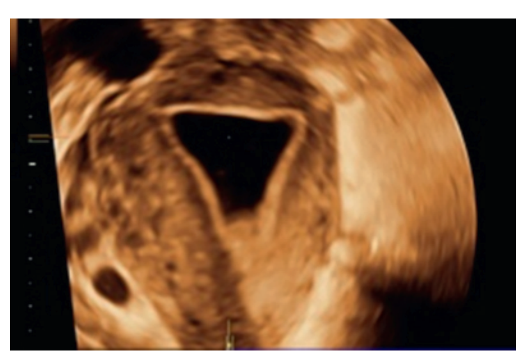


Figure 4.24 Visualisation de la cavité utérine, reconstruction 3D coronale.
À noter la bonne distensibilité de la lisière muqueuse.



Figure 4.25 Coupe sagittale d'un utérus avec une synéchie fondique.
On note un myome fondique qui affleure la cavité.

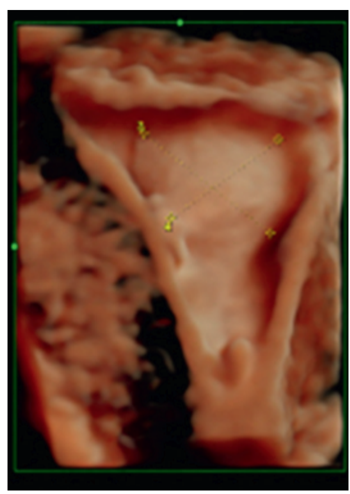


Figure 4.26 Volumineux polype muqueux endocavitaire occupant la moitié de cavité utérine. Coupe coronale.
Insertion postérieure. Bilan préopératoire.



Figure 4.27 Myome fundique latéralisé à gauche, transmural, avec composante intracavitaire. Coupe coronale.
Myome de grade II : moins de 50 % de son volume est endocavitaire.

Trompes

L'hystérosonographie permet de dépister des hydrosalpinx occultes qui se remplissent de sérum physiologique.

Pour la perméabilité tubaire, elle ne donne pour l'instant qu'une information indirecte : à la fin de l'examen, on peut trouver un épanchement dans le cul-de-sac de Douglas, signe d'un passage significatif de liquide.

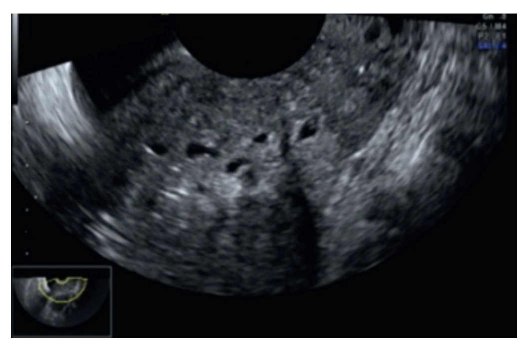


Figure 4.28 Remplissage des cryptes adénomyosiques (images anéchogènes corporéo-fundiques) seulement soupçonnées à l'examen échographique.
On note la présence d'images échogènes résiduelles : bulles d'airs et débris cellulaires restés coincés dans les cryptes.

Références

[1] Haadsma ML, et al. The number of small antral follicles (2–6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population. Hum Reprod 2007 ; 22 : 1925–31.

[2] Ben-Haroush A, Farhi J, Zahalka Y, et al. Correlations between antral follicle count and ultrasonographic ovarian parameters and clinical variables and outcomes in IVF cycles. Gynecol Endocrinol 2012 ; 28 : 432–5.

[3] Lujan ME, Jarrett BY, Brooks ED, et al. Updated ultrasound criteria for polycystic ovary syndrome : reliable thresholds for elevated follicle population and ovarian volume. Hum Reprod 2013 ; 28 : 1361–8.

[4] Christ JP, Vanden Brink H, Brooks ED, et al. Ultrasound features of polycystic ovaries relate to degree of reproductive and metabolic disturbance in polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 2015 ; 103 : 787–94.

[5] Wallace WH, Kelsey TW. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. Hum Reprod 2004 ; 19 : 1612–7.

[6] Swire MN, Castro-Aragon I, Levine D. Various sonographic appearances of the hemorrhagic corpus luteum cyst. Ultrasound Q 2004 ; 20 : 45–58.

[7] Kinkel K, Frei KA, Balleyguier C, Chapron C. Diagnosis of endometriosis with imaging : a review. Eur Radiol 2006 ; 16 : 285–98.

[8] Hudelist G, Ballard K, English J, et al. Transvaginal sonography vs. clinical examination in the preoperative diagnosis of deep infiltrating endometriosis. Ultrasound Obstet Gynecol 2011 ; 37 : 480–7.

[9] Maheshwari A, Gurunath S, Fatima F, Bhattacharya S. Adenomyosis and subfertility : a systematic review of

prevalence, diagnosis, treatment and fertility outcomes. Hum Reprod Update 2012 ; 18 : 374–92.

[10] Shah HU, Sannananja B, Baheti AD, et al. Hysterosalpingography and ultrasonography findings of female genital tuberculosis. Diagn Interv Radiol 2015 ; 21 : 10–5.

[11] Guerriero S, Ajossa S, Lai MP, et al. Transvaginal ultrasonography associated with colour Doppler energy in the diagnosis of hydrosalpinx. Hum Reprod 2000 ; 15 : 1568–72.

[12] Patel MD, Acord DL, Young SW. Likelihood ratio of sonographic findings in discriminating hydrosalpinx from other adnexal masses. AJR Am J Roentgenol 2006 ; 186 : 1033–8.

[13] Zhao J, Zhang Q, Wang Y, Li Y. Endometrial pattern, thickness and growth in predicting pregnancy outcome following 3319 IVF cycle. Reprod Biomed Online 2014 ; 29 : 291–8.

[14] Raine-Fenning N, et al. The reproducibility of endometrial volume acquisition and measurement with the VOCAL-imaging program. Ultrasound Obstet Gynecol 2002 ; 19 : 69–75.

[15] Schild RL, Indefrei D, Eschweiler S, et al. Three-dimensional endometrial volume calculation and pregnancy rate in an in-vitro fertilization programme. Hum Reprod 1999 ; 14 : 1255–8.

[16] Brosens I, et al. The enigmatic uterine junctional zone : the missing link between reproductive disorders and major obstetrical disorders ? Hum Reprod 2010 ; 25 : 569–74.

[17] Valentini AL, Speca S, Gui B, et al. Adenomyosis : from the sign to the diagnosis. Imaging, diagnostic pitfalls and differential diagnosis : a pictorial review. Radiol Med 2011 ; 116 : 1267–87.

[18] Nishino M, Togashi K, Nakai A, et al. Uterine contractions evaluated on cine MR imaging in patients with uterine leiomyomas. Eur J Radiol 2005 ; 53 : 142–6.

[19] Grimbizis GF, Gordts S, Di Spiezio Sardo A, et al. The ESHRE-ESGE consensus on the classification of female genital tract congenital anomalies. Gynecol Surg 2013 ; 10 : 199–212.

[20] Graupera B, Pascual MA, Hereter L, et al. Accuracy of three-dimensional ultrasound in the diagnosis of müllerian duct anomalies compared to magnetic resonance imaging using the ESHRE-ESGE Consensus on the classification of congenital anomalies of the female genital tract. Ultrasound Obstet Gynecol 2015 Feb 18.

[21] Seshadri S, El-Toukhy T, Douiri A, et al. Diagnostic accuracy of saline infusion sonography in the evaluation of uterine cavity abnormalities prior to assisted reproductive techniques : a systematic review and meta-analyses. Hum Reprod Update 2015 ; 21 : 262–74.

Traitements chirurgicaux indispensables chez la femme

CHAPITRE 5

H. Fernandez, A.-G. Pourcelot, P. Capmas

Les échecs de la chirurgie de l'infertilité essentiellement aux dépens de la chirurgie tubaire ont motivé le développement de l'assistance médicale à la procréation (AMP). Trente-sept ans après la première naissance issue d'une technique de fécondation *in vitro* (FIV), il est essentiel de ne pas oublier le rôle de la chirurgie en infertilité. Celle-ci garde deux finalités : soit elle permet de corriger la cause de l'infertilité et les couples pourront avoir une procréation naturelle, soit elle permet d'optimiser les résultats des techniques d'assistance médicale à la procréation et fait donc partie intégrante des discussions de prise en charge en infertilité.

Les traitements chirurgicaux concernent la chirurgie tubaire, chirurgie de la cavité utérine qui a pour finalité d'optimiser la nidation, et la chirurgie du fibrome, tout en sachant que le lien entre infertilité et fibrome n'excède jamais 3 %.

Place de la chirurgie tubaire

L'analyse de la perméabilité tubaire fait partie intégrante d'un bilan infertilité. Elle a pour but de diagnostiquer les salpingopathies distales, type hydrosalpinx ou occlusion fimbriale, les salpingopathies proximales secondaires aux infections ou à l'adénomyose et représentées par l'endosalpingiose. Plus rarement, des malformations, la tuberculose peuvent être retrouvées et dans toutes les situations, les adhérences secondaires aux infections pelviennes, aux infections abdominales type péritonite ou compliquant des chirurgies abdominales type myomectomie, endométriose et chirurgie digestive, doivent être suspectées.

La pathologie tubaire proximale ou distale est habituellement découverte au décours soit :

- d'un bilan d'infertilité avec analyse de la perméabilité tubaire par une hystérosalpingographie ou une hystérosonographie avec HyCoSy *(hysterosalpingo contrast sonography)*;
- d'une échographie parfois pour une autre indication que l'infertilité.

Dans ces indications, la cœlioscopie est indispensable dans le but de traiter un hydrosalpinx, par néosalpingostomie quand l'évaluation de la muqueuse tubaire peropératoire après incision de l'extrémité distale de la trompe permet de réaliser un score tubaire type Boer-Meisel. Cette stadification, est définie par :

- stade 1, muqueuse normale plis conservés;
- stade 2, atténuation modérée des plis et plage muqueuse normale;
- stade 3, absence de plis muqueux et aspect en nids d'abeilles.

En cas de stades 2 et 3, il est licite de pratiquer une salpingectomie et, par contre, de conserver les trompes dans le stade 1 qui permettra l'obtention d'une grossesse dans l'année suivant l'intervention dans 25 à 35 % des cas.

En cas d'occlusion fimbriale, il est pratiqué une fimbrioplastie avec une analyse similaire de la qualité de la muqueuse tubaire amenant à la même prise en charge qu'après ouverture d'un hydrosalpinx. Dans les occlusions proximales, il est nécessaire de pratiquer un cathétérisme peropératoire sous contrôle hystéroscopique de l'extrémité interstitielle de la trompe, qui permet dans certaines situations de retirer des plugs proximaux redonnant une perméabilité complète de la trompe.

En cas de malformation tubaire ou d'endométriose tubaire, il est plus licite de pratiquer une salpingectomie pour optimiser les traitements en fécondation *in vitro*.

Traitement des adhérences

En tant que tel, il ne se justifie pas, hormis si au décours d'une cœlioscopie faite pour exploration tubaire, des adhérences sont observées. En effet, le risque de plaie digestive lors d'adhérences sévères ne justifie pas la réalisation d'une chirurgie à risque qui devra donc être évitée. C'est surtout le cas lors d'antécédents de péritonite d'origine appendiculaire, digestive ou de chirurgie type anastomose iléo-rectale pour maladie de Crohn ou rectocolites hémorragiques.

En cas d'hydrosalpinx, la chirurgie tubaire est devenue un impératif en raison de l'impact négatif sur la fertilité observée en AMP avec diminution du taux d'implantation et du taux de grossesses [1, 2].

Plusieurs études ont confirmé que la salpingectomie améliore les résultats en AMP (tableaux 5.1 et 5.2) [3–6].

En cas de pelvis gelé lié à un abdomen multi-opéré, des chirurgies colorectales, des endométrioses extensives, des antécédents de pelvipéritonite, la cœlioscopie peut s'avérer à haut risque et ne prend probablement plus sa place dans la prise en charge des hydrosalpinx avant AMP (figure 5.1). Dans cette situation, on peut proposer l'occlusion de l'hydrosalpinx par la pose de micro-implants type Essure® dans le but d'occlure complètement l'hydrosalpinx. Une étude multicentrique française, réalisée à partir de 45 centres d'AMP en France, a permis d'observer chez 43 femmes traitées un taux d'implantation de 29,3 % par embryon, un taux de grossesses cliniques par patiente de 65,5 % et d'enfants vivants par transfert dans 25,9 % (tableau 5.3) [7]. Cette prise en charge par micro-implant apparaît comme une alternative essentielle qui doit se développer pour traiter aisément, voire sans anesthésie, des patientes avec hydrosalpinx et abdomen inabordable.

Place de la robotique en infertilité

La chirurgie de la re-perméabilisation tubaire n'est pas une chirurgie indispensable. Elle se discute quand la réserve ovarienne est altérée et ne permet pas de proposer une AMP, ou quand la technique d'occlusion tubaire autorise à discuter une re-perméabilisation surtout chez des femmes jeunes où le taux de grossesses spontanées peut atteindre 70 %.

La technique chirurgicale peut être réalisée au microscope en mini-laparotomie, en cœlioscopie soit par une technique en deux points dite *one stitch*, soit par une technique de suture à 4 ou 6 points utilisant l'optique pour magnifier la vision. Dans cette indication, la chirurgie robotique peut être utilisée avec des résultats équivalents en termes de fertilité que les techniques classiques mais avec une courbe d'apprentissage facilitée pour la réalisation de telle indication en raison de la maniabilité des instruments en robotique. Cependant le rapport coût–efficacité n'a jamais justifié le développement de cette technique opératoire.

Hystéroscopie opératoire

L'hystéroscopie diagnostique sans anesthésie est un examen incontournable du bilan d'infertilité. Doit-elle être réalisée systématiquement avant tout traitement d'infertilité ou d'assistance médicale à la procréation ? Il n'existe pas de réponse scientifique à cette question mais par contre il est admis qu'une cavité utérine *ad integrum* optimise les résultats des traitements d'infertilité. La chirurgie hystéroscopique a donc pour finalité d'augmenter les chances de succès sans pour autant qu'il y ait toujours de preuves que le traitement améliore la fertilité.

L'hystéroscopie opératoire s'intéresse donc au traitement des fibromes type 0, 1 ou 2 de la nouvelle classification FIGO 2011 (figure 5.2), au traitement des polypes, des malformations, des synéchies.

Tableau 5.1 Traitement des hydrosalpinx avant AMP : salpingectomie *versus* occlusion tubaire.

	Obturation tubaire		Salpingectomie			Odds Ratio	Odds Ratio
Etude ou sous groupe	Evénement	Total	Evénement	Total	Poids	M-H, fixé,95%,CI	M-H, fixé,95%,CI
6.1.1 Taux de grossesse évolutive							
Kontoravdis 2006	23	50	17	50	100 %	1,65(0,74;3,71)	
Sous Total (95%CI)		**50**		**50**	**100 %**	**1,65(0,74;3,71)**	
Total événements	**23**		**17**				
Hétérogénéité: Non applicable							
Test sur effet global : Z=1,22 (P=0,22)							
6.1.2 Taux de grossesse clinique							
Kontoravdis 2006	26	50	20	50	38,0 %	1,63(0,74;3,59)	
Moshin 2006	31	78	23	60	62%	1,06(0,53;2,12)	
Sous Total (95%CI)		**128**		**110**	**100 %**	**1,28(0,76;2,14)**	
Total événements	**57**		**43**				
Hétérogénéité: Chi²=0,63, df=1 (P=0,43); I²=0%							
Test sur effet global : Z=0,92 (P=0,36)							

D'après Johnson N, et al. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. Cochrane Database Syst Rev *2010; (1) : CD002125.*

Tableau 5.2 Traitement des hydrosalpinx avant AMP : chirurgie *versus* abstention.

	Traitement		Contrôle			Odds Ratio	Odds Ratio
Etude ou sous groupe	Evénement	Total	Evénement	Total	Poids	M-H, fixé,95%,CI	M-H, fixé,95%,CI
5.1.1 Taux de grossesse évolutive							
Dechaud 1998	13	30	6	30	19,0 %	3,06(0,97;9,66)	
Kontoravdis 2006	17	50	2	15	11,3 %	3,35(0,68;16,58)	
Strandell 1999	31	116	15	88	69,7 %	1,77(0,89;3,54)	
Sous Total (95%CI)		**196**		**133**	**100 %**	**2,20(1,26;3,82)**	
Total événements	**61**		**23**				
Hétérogénéité: Chi²=0,95, df=2 (P=0,62); I²=0%							
Test sur effet global : Z=2, 79 (P=0,005)							
5.1.2 Taux de grossesse clinique							
Kontoravdis 2006	20	50	2	15	8,0 %	4,33(0,88;21,3)	
Moshin 2006	23	60	8	66	20,5 %	4,51(1,82;11,13)	
Strandell 1999	40	116	22	88	71,5%	1,58(0,85;2,92)	
Sous Total (95%CI)		**226**		**169**	**100 %**	**2,40(1,49;3,86)**	
Total événements	**83**		**32**				
Hétérogénéité: Chi²=4,17, df=2 (P=0,12); I²=52%							
Test sur effet global : Z=3,61 (P=0,0003)							
5.1.3 Taux de grossesse – toute définition							
Dechaud 1998	13	30	6	30	12,9 %	3,06(0,97;9,66)	
Kontoravdis 2006	20	50	2	15	7 %	4,33(0,88;21,3)	
Moshin 2006	23	60	8	66	17,8 %	4,51(1,82;11,13)	
Strandell 1999	40	116	22	88	62,2 %	1,58(0,85;2,92)	
Sous Total (95%CI)		**256**		**199**	**100 %**	**2,49(1,6;3,86)**	
Total événements	**96**		**38**				
Hétérogénéité: Chi²=4,34, df=3 (P=0,23); I²=31%							
Test sur effet global : Z=4,06(P<0,0001)							

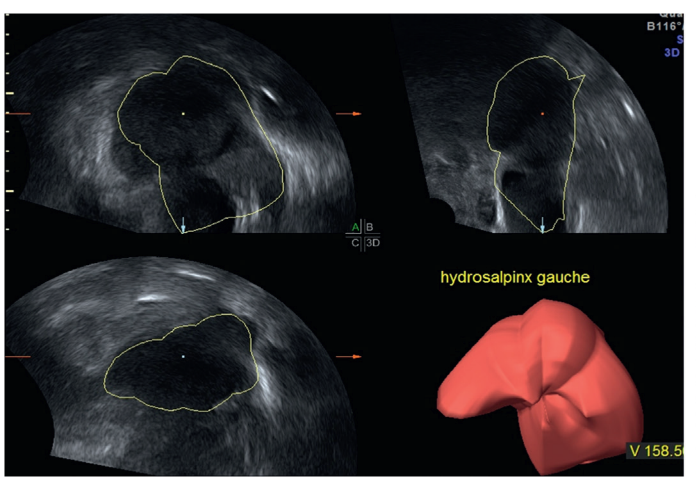




Figure 5.1 **Hydrosalpinx et échographie.**

Tableau 5.3 **Résultat cure d'hydrosalpinx par Essure®.**

	Population de femmes avec transfert
Taux d'implantation (%, n par embryon transféré)	29,3% (27/92)
Taux de grossesse clinique par transfert d'embryons (%)	40,7 % (22/54)
Taux de grossesse clinique par patiente (%)	65,5 % (19/29)
Fausse couche (% / n par grossesse clinique)	31,8 % (7/22)
Grossesse Extra Utérine (%, n par grossesse clinique)	0 % (0/22)
Mort fœtale in utéro (%, n par grossesse clinique)	4,5 % (1/22)
Enfant vivant / transfert	25,9 % (14/54)

Dans toutes les indications, on est confronté à une nouvelle définition de la femme jeune. Celle-ci ne correspond plus à un âge calendaire mais les progrès des procréations par dons de gamètes ou d'embryons justifient chez des femmes même en pré-ménopause de réaliser des chirurgies endo-utérines conservant apte la cavité utérine à la nidation d'embryon(s).

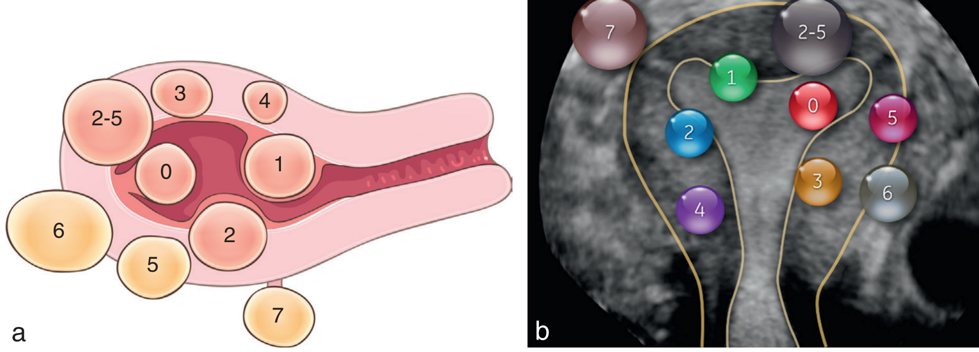


Figure 5.2 Classification des fibromes FIGO 2011 (a et b).
Les fibromes 0, 1, 2, 3, 4 et 5 sont causes de ménométrorragies.
Les fibromes 5, 6, 7 sont causes de nécrobiose ou de compression des organes de voisinage.

Chirurgie des fibromes

Les fibromes 0 à 5 sont causes de ménométrorragies et peuvent perturber l'implantation. L'échographie et l'hystérosonographie permettent au mieux de pratiquer une cartographie déterminant les indications des hystéroscopies opératoires. La résection hystéroscopique des fibromes est au mieux réalisée en chirurgie bipolaire, utilisant du sérum physiologique comme milieu de distension, supprimant de ce fait le risque de *Turr syndrome* et limitant le nombre de synéchies. L'impact négatif de ces fibromes est connu aussi bien en fertilité spontanée qu'en AMP [8].

Le traitement de ces fibromes peut se faire par des techniques opératoires sans dilatation utilisant des électrodes 5 French ou des mini-résectoscopes de 5 mm, en chirurgie plus conventionnelle en charrière 24 ou 27 avec anse de résection.

Traitement des polypes

L'impact des polypes sur la fertilité dépend de leur taille. Ainsi à moins de 2 cm, les chances de grossesse sont identiques mais augmentent le risque de fausse couche. À moins de 1,5 cm, il n'a jamais été retrouvé d'effets négatifs en assistance médicale à la procréation.

Les polypes de la jonction tubo-utérine peuvent, en perturbant la fonction de la jonction ostiale, gêner la migration.

Aucune étude randomisée n'a évalué le bénéfice de la polypectomie en hystéroscopie. Cependant l'étude prospective randomisée avant insémination de Perez-Medina [9] a permis de montrer de manière significative que la polypectomie améliorait les taux de grossesses. Par contre, le curetage à l'aveugle doit être considéré comme inefficace car il laisse une fois sur deux une partie voire l'intégralité du polype sans réséquer la base du polype.

La prise en charge des hypertrophies de l'endomètre est par contre plus complexe. En effet, celle-ci est souvent associée au syndrome des ovaires micropolykystiques en raison de l'hyperœstrogénie relative. Le traitement de ces hypertrophies, soit par curetage, soit par résection superficielle de l'endomètre en laissant la base glandulaire en hystéroscopie, améliore notablement les ménorragies, et les résultats en termes d'infertilité s'intriquent avec les résultats de la prise en charge du syndrome des ovaires micropolykystiques rendant donc l'interprétation difficile des résultats.

Chirurgie des malformations utérines

Celle-ci concerne deux types de malformations :

- les utérus de type 5 de la classification AFS *(American Fertility Society)* à savoir utérus cloisonné total ou partiel ;

- les utérus de type 7 autrement appelés utérus DES associé à une hypertrophie du mur latéral de l'endomètre.

La chirurgie type plastie d'agrandissement d'un utérus type DES ou *T-sharped uterus* [10] à défaut d'avoir montré une augmentation de la fertilité montre une amélioration des résultats obstétricaux avec 36 % de naissances vivantes. L'échographie préopératoire est essentielle avant toute indication chirurgicale (figure 5.3).

La chirurgie des cloisons utérines, qu'elle soit réalisée de principe en cas d'infertilité ou en raison de fausses couches spontanées à répétition précoces ou en cas d'antécédents de fausses couches tardives ou d'accouchement prématuré avant 30 SA, permet de limiter le nombre de fausses couches au taux habituellement rencontré pour l'âge des patientes, voire pour certains auteurs d'améliorer la fertilité [11]. Cette chirurgie hystéroscopique a pour but d'aligner les ostia tubaires par section de la cloison utérine. Il est important de vérifier que la cloison résiduelle postopératoire n'excède pas 8 mm. Dans le cas contraire, il sera nécessaire de pratiquer un deuxième temps opératoire.

Chirurgie des synéchies

Quelle que soit la cause des synéchies, en premier lieu représentée par la réalisation de curetage du post-abortum ou du post-partum, la restitution *ad integrum* de la cavité est l'élément primordial avant tout traitement d'infertilité. Le diagnostic est réalisé au décours d'une hystéroscopie ou d'une hystérosalpingographie voire au cours d'une échographie. Le traitement des synéchies légères à sévères (synéchie type 4 ou syndrome d'Asherman avec occlusion complète de la cavité) relève d'une chirurgie hystéroscopique sous contrôle échographique afin de ne pas générer de fausses routes. Il est essentiel de savoir répéter le geste pour optimiser la création d'une néo-cavité, car plus de deux temps opératoires sont nécessaires dans un quart des cas de synéchies sévères [12]. Le taux de grossesses observé après synéchie de type 4 est entre 25 et 35 % dans la littérature.

Dans toutes les indications de chirurgie pour infertilité chez les femmes en âge de procréer gardant le désir de grossesse, il est important de réaliser 6 à 8 semaines après le traitement hystéroscopique initial une hystéroscopie de contrôle dans le but de confirmer la restitution de la cavité et de traiter, s'il en existe, des synéchies résiduelles.

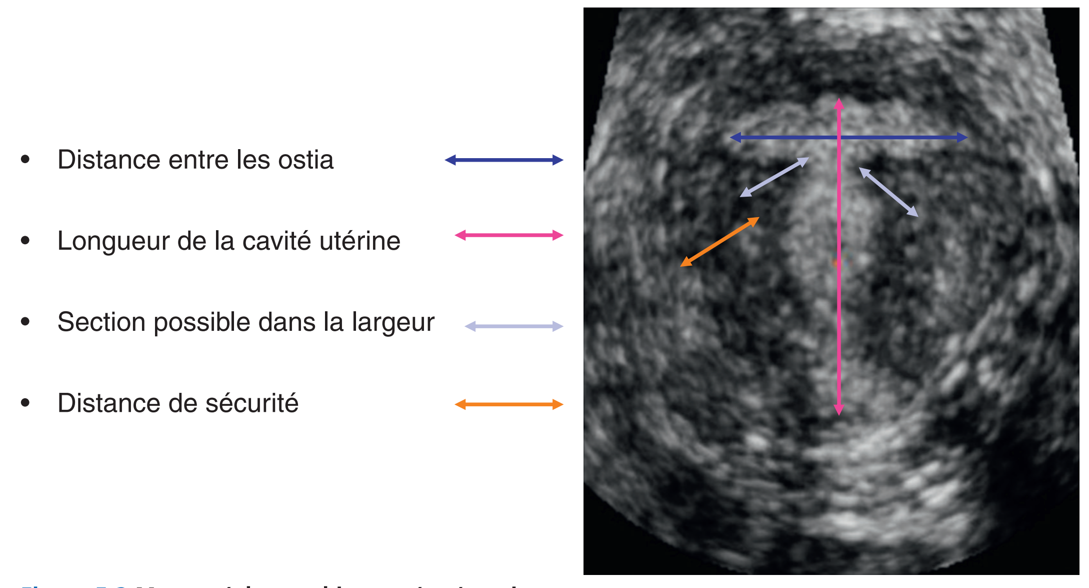


Figure 5.3 **Mesure échographique préopératoire.**

Myome et infertilité

Le lien entre les deux pathologies est débattu depuis des décennies sans réponse parfaitement claire. La prévalence de l'infertilité chez des patientes porteuses de myomes est estimée entre 30 et 40 %. Cependant avant une prise en charge médicale, 5 % des cas d'infertilité sont associés à la présence de fibromes. Ils semblent responsables comme unique facteur d'infertilité dans 3 % des cas.

La relation myome et infertilité est évoquée devant les anomalies de la contractilité utérine, les altérations de muqueuse utérine, les anomalies de la vascularisation utérine et les obstructions tubaires. Chaque étape peut interférer sur le processus aboutissant à une grossesse. Le débat myome–infertilité répond à une double problématique : existe-t-il une relation de causalité ? Quel est le bénéfice et la place du traitement chirurgical chez les patientes infertiles ?

En procréation naturelle, on a clairement établi le lien entre la présence d'un fibrome type 0, 1 ou 2 et l'échec de grossesse pouvant justifier la réalisation de résection hystéroscopique. Par contre, pour les myomes intramuraux type 3 à 5, le traitement chirurgical en conception spontanée n'a jamais montré de bénéfice sur la fertilité. Quant au fibrome sous-séreux, type 6 ou 7, il n'existe aucun lien avec la fertilité que l'on soit en procréation naturelle ou en assistance médicale à la procréation.

En assistance médicale à la procréation, le risque relatif de grossesse et d'implantation en cas de myome sous-muqueux est estimé à 0,3. Dans les méta-analyses respectives de Pritts, Somigliana, Klasty, et de nouveau Pritts en 2009 (tableau 5.4) [13–15], toutes les études vont dans le même sens mais par contre aucune étude n'a montré que la résection modifiait les résultats même si c'est plus vraisemblablement le manque de puissance des études réalisées qui ne permet pas de répondre à la question. Par contre pour les fibromes intramuraux, il existe une discrète altération de la fertilité par diminution du taux d'implantations et de grossesses, mais par contre on n'a jamais montré qu'une myomectomie changeait les résultats (tableau 5.5).

La place des polymyomectomies par laparotomie reste débattue chez des patientes ayant de volumineux fibromes rendant probablement l'évolution d'une grossesse difficile. Dans les situations où le nombre et les volumes justifient cette prise en charge, il est important de prévenir les adhérences par l'utilisation de produits anti-adhérentiels afin de ne pas transformer une infertilité liée aux fibromes en une infertilité mécanique par la création d'adhérences. La méticulosité chirurgicale proche de celle employée dans les techniques de microchirurgie est essentielle pour limiter ces risques.

Dans l'adénomyose, qu'elle soit isolée ou associée, il n'existe pas de preuves justifiant la définition d'une chirurgie indispensable chez les femmes porteuses de cette pathologie. Elle ne devra donc être réservée qu'à des cas particuliers pour soit :

- traiter une forme kystique péricavitaire ;
- proposer des métrectomies en cas d'hypertrophies majeures de la face antérieure ou postérieure du corps utérin.

Tableau 5.4 Méta-analyse de Pritts : myomes sous-muqueux.

Critères	Myomes sous-muqueux					
	Contrôle : myome sans chirurgie			Contrôle : patientes infertiles sans myome		
	Nombre d'études	Risque relatif (IC à 95 %)	*p*	Nombre d'études	Risque relatif (IC à 95 %)	*p*
Taux de grossesses	2	2,0 (1,01–3,8)	0,028	2	1,5 (0,9–2,4)	NS
Taux d'implantation	0	–	–	2	1,1 (0,9–1,4)	NS
Taux de naissances vivantes	1	2,6 (0,9–7,7)	NS	3	1,1 (0,9–1,3)	NS
Taux de pertes fœtales	1	0,8 (0,4–1,7)	NS	2	1,2 (0,5–3,2)	NS
Taux d'accouchements prématurés	0	–	–	0	–	NS

Tableau 5.5 Méta-analyse de Pritts 2009 : myomes intramuraux.

Critères	Myomes sous-muqueux						Myomes intramuraux et sous-séreux		
	Contrôle : myome sans chirurgie			Contrôle : patientes infertiles sans myome					
	Nombre d'études	Risque relatif (IC à 95 %)	*p*	Nombre d'études	Risque relatif (IC à 95 %)	*p*	Nombre d'études	Risque relatif (IC à 95 %)	*p*
Taux de grossesses	2	2,1 (1,01–3,8)	0,028	2	1,5 (0,9–2,4)	NS	2	3,8 (0,5–30,1)	NS
Taux d'implantation	0	–	–	2	1,1 (0,9–1,4)	NS	0	–	–
Taux de naissances vivantes	1	2,6 (0,9–7,7)	NS	3	1,1 (0,9–1,3)	NS	1	1,7 (0,7–3,7)	NS
Taux de pertes fœtales	1	0,8 (0,4–1,7)	NS	2	1,2 (0,5–3,2)	NS	1	0,7 (0,3–1,9)	NS
Taux d'accouchements prématurés	0	–	–	0	–	NS	0	–	–

Conclusion

La chirurgie tubaire ou utérine est clairement indispensable pour soit favoriser les fécondations spontanées hors techniques d'assistance médicale à la procréation, soit optimiser les résultats de ces techniques. L'évolution de cette chirurgie justifie de considérer que la première question à poser avant tout traitement hystéroscopique d'une pathologie intracavitaire est de savoir si la femme veut conserver ses possibilités de procréation. Dès que la réponse est positive ou hésitante, il faudra faire bénéficier cette cavité utérine de la qualité des traitements hystéroscopiques qui nous permet toujours de conserver une cavité apte à la procréation. Cette réflexion est au centre de toute la prise en charge chirurgicale de la fertilité ou de l'infertilité. Les bénéfices attendus doivent toujours être mis en balance avec les risques éventuels sur la fertilité et les discussions pluridisciplinaires doivent être privilégiées.

Références

[1] Camus E, Poncelet C, Goffinet F, et al. Pregnancy rates after in-vitro fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx : a meta-analysis of published comparative studies. Hum Reprod 1999; 14 : 1243–9.

[2] Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization embryo transfer. Fertil Steril 1998; 70 : 492–9.

[3] Dechaud H, Daures JP, Arnal F, et al. Does previous salpingectomy improve implantation and pregnancy rates in patients with severe tubal factor infertility who are undergoing in vitro fertilization? A pilot prospective randomized study. Fertil Steril 1998; 69 : 1020–5.

[4] Johnson N, van Voorst S, Sowter MC, et al. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. Cochrane Database Syst Rev 2010; 1.

[5] Kontoravdis A, Makrakis E, Pantos K, et al. Proximal tubal occlusion and salpingectomy result in similar improvement in in vitro fertilization outcome in patients with hydrosalpinx. Fertil Steril 2006; 86 : 1642–9.

[6] Strandell A, Lindhard A. Hydrosalpinx and ART. Salpingectomy prior to IVF can be recommended to a well-defined subgroup of patients. Hum Reprod 2000; 15 : 2072–4.

[7] Legendre G, Moulin J, Vialard J, et al. Proximal occlusion of hydrosalpinges by Essure® before assisted reproduction techniques : a French survey. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2014; 181 : 300–4.

[8] CNGOF. Recommandations pour la pratique clinique. Myoma management; 2011.

[9] Perez-Medina T, Bajo-Arenas J, Salazar F, et al. Endometrial polyps and their implication in the pregnancy rates of patients undergoing intrauterine insemination : a prospective, randomized study. Hum Reprod 2005; 20 : 1632–5.

[10] Fernandez H, Garbin O, Castaigne V, et al. Surgical approach to and reproductive outcome after surgical correction of a T-shaped uterus. Hum Reprod 2011 ; 26 : 1730–4.
[11] Mollo A, De Franciscis P, Colacurci N, et al. Hysteroscopic resection of the septum improves the pregnancy rate of women with unexplained infertility : a prospective controlled trial. Fertil Steril 2009 ; 91 : 2628–31.
[12] Fernandez H, Peyrelevade S, Legendre G, et al. Total adhesions treated by hysteroscopy : must we stop at two procedures ? Fertil Steril 2012 ; 98 : 980–5.
[13] Pritts EA, Parker WH, Olive DL. Fibroids and infertility : an updated systematic review of the evidence. Fertil Steril 2009 ; 91 : 1215–23.
[14] Somigliana E, Daguati R, Vercellini P, et al. The use and effectiveness of in vitro fertilization in women with endometriosis : the surgeon's perspective. Fertil Steril 2009 ; 91 : 1775–9.
[15] Klatsky PC, Lane DE, Ryan IP, Fujimoto VY. The effect of fibroids without cavity involvement on ART outcomes independent of ovarian age. Hum Reprod 2007 ; 22 : 521–6.

Quand intervenir en cas d'endométriose avant la procréation médicalement assistée ?

CHAPITRE 6

P. Santulli, V. Gayet, L. Marcellin, M. Bourdon,
P. Marzouk, D. de Ziegler, C. Chapron

L'endométriose, pathologie inflammatoire dont la physiopathologie reste mal élucidée, est source de douleurs pelviennes et d'infertilité [1]. L'hétérogénéité est une des caractéristiques principales de l'endométriose. Cette hétérogénéité se manifeste tant sur le plan clinique qu'anatomique. Il existe trois phénotypes d'endométriose :

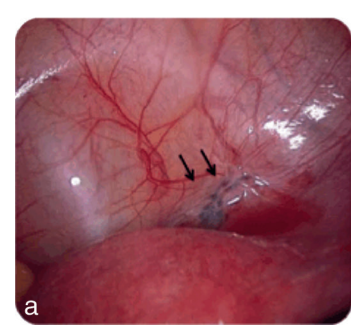
- l'endométriose superficielle (SUP) constituée d'implants adhérents à la surface du péritoine ;
- l'endométriome ovarien (OMA) qui est un kyste ovarien endométriosique à paroi épaisse et à contenu hématique ;
- l'endométriose profonde (DIE), arbitrairement définie par une pénétration de la lésion d'au moins 5 mm sous le péritoine, ou encore par l'envahissement de la musculeuse de l'organe cible (figure 6.1).

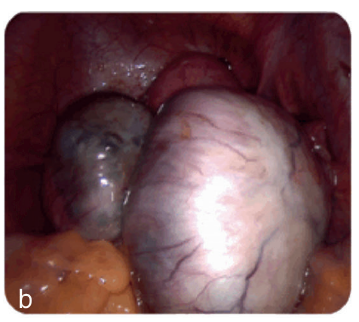
L'endométriose a un impact sur la fertilité des patientes à trois niveaux [1] : la cavité abdomino-pelvienne ; l'ovaire ; l'utérus. Par soucis de clarté, nous avons choisi de regrouper les différents mécanismes par lesquels l'endométriose affecte la reproduction, selon le territoire où ils s'exercent. L'avantage de cette classification est qu'elle permet de mieux comprendre les mécanismes d'action des différentes options thérapeutiques.

Impact de l'endométriose sur la fertilité

Inflammation de la cavité pelvienne et conception *in vivo*

Le phénomène de régurgitation menstruelle à l'origine de l'endométriose est responsable d'une





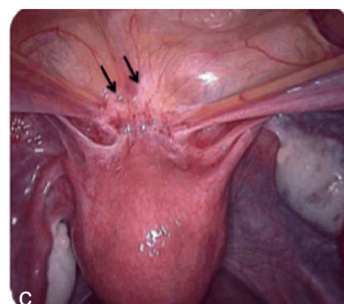


Figure 6.1 Les différentes formes d'endométriose.
a. Endométriose superficielle.
b. Endométriome.
c. Endométriose profonde.

importante réaction inflammatoire dans la cavité abdomino-pelvienne. Cette inflammation perturbe l'interaction entre spermatozoïde et ovocyte. Il en résulte une diminution des chances de conception spontanée ou *in vivo*. Les données de la littérature suggèrent que suite à une prise en charge chirurgicale, les possibilités de conception spontanée dans les 6 à 18 mois suivant l'intervention sont augmentées. Dans une étude rétrospective, Vercellini *et al.* ont rapporté que le taux de conceptions spontanées suite à une chirurgie était d'environ 50 %, indépendamment du stade de la maladie [2]. Ces résultats, en accord avec de nombreuses publications [2], sont corrélés à la qualité du geste chirurgical [3].

Endométriose ovarienne et réponse à la stimulation

La localisation ovarienne de l'endométriose se traduit par la formation d'endométriomes. Ceux-ci sont le résultat d'une invagination des lésions endométriosiques primaires qui, secondairement, se remplissent du sang accumulé au moment des menstruations au sein du tissu ectopique. Les endométriomes interfèrent avec le développement des follicules ovariens, non seulement en cas de fertilité spontanée [4] mais également dans un contexte de fécondation *in vitro* (FIV) où l'on note une diminution du nombre d'ovocytes recueillis lors de la stimulation ovarienne. Cependant, des études récentes retrouvent 43 % de conceptions spontanées à 6 mois dans une population de patientes porteuses d'endométriome ovarien [5]. L'impact de la présence d'un endométriome ovarien sur l'ovulation et la fertilité spontanée reste très controversé et devra, dans les années à venir, faire l'objet d'études spécifiques.

La conséquence principale de l'endométriose ovarienne réside dans une réponse sub-optimale voire nettement altérée à la stimulation ovarienne, notamment en présence d'endométriomes bilatéraux [6]. Cette diminution de la réponse ovarienne observée en cas d'endométriose est à différencier d'une réponse ovarienne insuffisante liée à l'âge. En effet, si la qualité ovocytaire est diminuée en cas de vieillissement ovarien dû à l'âge, elle ne semble pas être altérée en cas d'endométriose ovarienne [7].

La responsabilité de l'endométriose elle-même, de la présence d'endométriomes ou bien d'un antécédent de chirurgie pour endométriome, afin d'expliquer la mauvaise réponse ovarienne à la stimulation, est très débattue. Dans une étude récente, Streuli *et al.* ont démontré que la présence d'un antécédent de chirurgie pour endométriome ovarien était le facteur principal responsable d'une altération de la fonction ovarienne. Les auteurs ont montré que les taux d'AMH *(anti-mullerian hormone)* mesurés juste avant la chirurgie n'étaient pas altérés chez les patientes porteuses d'endométriomes, en comparaison à ceux observés chez des patientes du même âge indemnes de la pathologie. Les taux plasmatiques d'AMH étaient significativement diminués chez les patientes, porteuses ou non d'endométriomes, qui avaient un antécédent de chirurgie pour endométriome, en comparaison avec les patientes n'ayant jamais été opérées [8, 9].

Ces données supportent l'hypothèse selon laquelle ce serait la chirurgie du kyste endométriosique – et non l'endométriome en tant que tel – qui altérerait la réponse ovarienne. Ainsi, la décision d'opérer un endométriome peut être lourde de conséquences pour la fertilité des patientes. Dans la très grande majorité des cas, il convient de ne pas opérer les patientes lorsqu'une assistance médicale à la procréation (AMP) est envisagée.

Atteinte utérine et réceptivité endométriale

Des données récentes ont montré que l'endomètre eutopique était anormal en cas d'endométriose [10]. Ces altérations fonctionnelles rencontrées en cas d'endométriose semblent altérer la qualité de la réceptivité endométriale et expliquent ainsi les échecs de grossesse en AMP [11, 12]. Les principaux mécanismes en cause sont la résistance à la progestérone, l'inflammation et l'existence d'une stéroïdogenèse accrue [1, 13].

Il a été montré que les anomalies endométriales décrites dans l'endométriose régressaient suite à la suppression de la fonction ovarienne, via l'utilisation d'analogues agonistes de la GnRH *(gonadotropin-releasing hormone analogue* ou GnRH-a) [14] ou d'une pilule contraceptive [15]. Des essais cliniques ont montré que 3 à 6 mois de

suppression ovarienne par utilisation de GnRH-a avant AMP amélioraient significativement les résultats [16]. En utilisant un traitement par GnRH-a, l'intensité de la réponse ovarienne à la stimulation n'était pas diminuée en comparaison à un groupe contrôle qui ne recevait pas de traitement avant AMP [16]. Il a récemment été suggéré qu'une normalisation de la réceptivité endométriale pouvait être obtenue dans l'endométriose en supprimant la fonction ovarienne à l'aide d'une pilule œstroprogestative, avec l'avantage majeur d'induire moins d'effets secondaires que les GnRH-a [17].

En pratique

La prise en charge de l'infertilité dans un contexte d'endométriose doit être globale en tenant compte, non seulement des douleurs qui peuvent être associées à l'infertilité, mais aussi du phénotype des lésions endométriosiques (SUP, OMA, DIE), éventuellement associé à une adénomyose utérine. Cette prise en charge optimale nécessite des centres pluridisciplinaires comprenant des chirurgiens, des praticiens experts en AMP, des endocrinologues, des radiologues… La patiente doit bénéficier d'un diagnostic de qualité avant d'avoir accès, au sein d'une même structure, à la totalité des options thérapeutiques possibles.

La chirurgie augmente les chances de conception spontanée dans les 6 à 18 mois. Ainsi, il est important de déterminer initialement si une conception spontanée est envisageable avant de planifier la prise en charge chirurgicale. De ce fait, il est nécessaire de s'assurer de la qualité du sperme et de la perméabilité tubaire. Il est également indispensable de déterminer à l'avance s'il paraît raisonnable pour la patiente de s'accorder un délai de 6 à 18 mois après la chirurgie dans le but d'obtenir une conception spontanée. Pour cela, il convient d'étudier la réserve ovarienne (FSH, œstradiol à J3, AMH et compte folliculaire) et de s'assurer que la patiente accepte ce délai. Les principes de la prise en charge chirurgicale se fondent sur le « radicalité de l'exérèse », reposant sur l'excision complète des lésions d'endométriose [18, 19].

Une telle stratégie ne pourra être envisagée qu'après avoir réalisé une cartographie préoperatoire de toutes les lésions d'endométriose à l'aide de l'imagerie (échographie pelvienne, IRM et échographie endorectale). Dans la pratique quotidienne, l'évaluation de l'intensité des symptômes douloureux permet d'orienter la réalisation des examens complémentaires radiologiques, notamment en cas d'endométriome ovarien. En effet, en présence d'endométriome ovarien, les douleurs pelviennes sévères sont significativement corrélées à la présence de lésions d'endométriose profonde associée. En cas d'endométriome douloureux, le clinicien doit réaliser un bilan approprié afin d'apprécier l'étendue de la maladie et de rechercher des lésions d'endométriose profonde [20].

Cette stratégie de prise en charge globale est non seulement efficace sur la symptomatologie douloureuse [18, 19, 21], mais aussi sur les possibilités de grossesse [22] tout en minimisant le risque de récidive [23–26]. Dans ce contexte, la chirurgie peut nécessiter la réalisation de résections étendues (coloproctectomie, cystectomie partielle, chirurgie urétérale), avec pour conséquence un risque de réelles complications (rétention chronique d'urine, fistule rectovaginale par exemple) [18, 19]. La chirurgie, notamment pour les patientes présentant des lésions de DIE, doit être réalisée par des équipes entraînées offrant un plateau chirurgical multidisciplinaire (chirurgies gynécologique, intestinale et urologique).

Si une prise en charge chirurgicale est finalement retenue, il n'y a pas d'intérêt à proposer des procédures intermédiaires comme les stimulations–inséminations intra-utérines, qui n'offrent aucun bénéfice démontré dans ce contexte [27]. Au bout du délai préétabli de 6 à 18 mois et en l'absence de conception spontanée, une AMP doit être proposée.

Lorsque l'âge de la patiente et/ou une faible réserve ovarienne excluent la possibilité d'attendre 6 à 18 mois après la chirurgie, ou encore lorsque le sperme et/ou le statut tubaire sont incompatibles avec une conception spontanée, une AMP doit être entreprise en première intention. Dans ces cas, une suppression de la fonction ovarienne est recommandée avant AMP, que soit par des GnRH-a pendant 3 à 6 mois ou par pilule œstroprogestative pendant 6 à 9 semaines. La chirurgie n'est pas recommandée avant l'AMP, puisqu'elle n'améliore pas les chances de succès. Cette nouvelle règle – « pas de chirurgie avant

FIV » – comporte tout de même certaines exceptions, il convient d'envisager une chirurgie avant AMP en cas de :

- douleurs pelviennes invalidantes ;
- hydrosalpinx ;
- doute sur la bénignité de la lésion ovarienne.

Le cas particulier de l'endométriome

L'endométriome est la « lésion clé » en matière de prise en charge de l'endométriose. En effet, il a été démontré que si la chirurgie permet d'augmenter les chances de grossesse spontanée, elle est aussi associée à une altération de la réserve ovarienne [9, 28]. Dans un contexte d'endométriose, la diminution de la réserve ovarienne a un pronostic de fertilité nettement moins bon comparé à celui d'une diminution de la réserve ovarienne d'autre origine [29]. Puisqu'il n'existe aucune évidence à l'heure actuelle quant à la supériorité de la chirurgie par rapport à l'AMP en termes de taux de grossesses, en présence d'endométriome, la stratégie thérapeutique dépend de la balance bénéfices/risques.

En cas d'endométriome bilatéral chez une patiente infertile, le risque majeur d'altération de la réserve ovarienne [6] doit faire orienter la patiente vers l'AMP de première intention.

En cas de récidive d'endométriome après kystectomie, le risque de diminution de la réserve ovarienne en cas de chirurgie itérative est considérablement augmenté [8]. Dans ces situations, il est préférable d'orienter la patiente vers une AMP [30, 31].

Dans tous les cas où une AMP a été décidée dans un contexte d'endométriome ovarien, une antibioprophylaxie doit encadrer la ponction d'ovocytes afin de diminuer le risque de surinfection.

Selon certaines équipes, la taille importante de l'endométriome peut motiver les praticiens à réaliser une kystectomie avant prise en charge en AMP afin de diminuer les risques liés à l'AMP à savoir : infection d'endométriome, rupture kystique, difficulté d'accès aux follicules ou encore aggravation d'une éventuelle symptomatologie douloureuse. Cependant, ces risques demeurent théoriques et n'imposent pas une exérèse systématique des endométriomes avant AMP [32]. En conséquence, se pose l'éternel problème de la taille limite de l'endométriome au-delà de laquelle une prise en charge chirurgicale est indispensable avant AMP. De nos jours, les données de la littérature sont insuffisantes pour établir un seuil de taille précis. Nous pensons qu'en dessous de 6 à 8 cm, aucun geste n'est nécessaire avant une prise en charge en AMP. En cas d'endométriome très volumineux, un drainage sous échoguidage 2 à 4 semaines avant la procédure d'AMP peut être envisagé et semblerait améliorer les résultats de la stimulation [33].

Cependant, lorsque le risque de diminution de la réserve ovarienne est important et que la chirurgie ne peut pas être évitée, il paraît utile de mettre en place une stratégie de préservation de la fertilité en préopératoire via une cryopréservation d'ovocytes ou d'embryons [34].

Le cas particulier de l'adénomyose

L'adénomyose est définie par la présence de glandes endométriales et de stroma cytogène, en position ectopique, à l'intérieur du myomètre. Dans une étude prospective, Naftalin et al. ont mis en évidence, après analyse multivariée, l'existence d'une association significative entre l'adénomyose et l'âge, la gestité ainsi que l'existence d'une endométriose pelvienne [35]. L'adénomyose est responsable d'une diminution de 30 % des chances de grossesse en AMP ainsi qu'une augmentation du taux de fausses couches spontanées [36]. L'impact de l'adénomyose semble être encore plus inquiétant en cas de chirurgie d'une endométriose digestive. En effet, une revue de la littérature évaluant les taux de grossesses après chirurgie de l'endométriose digestive met en évidence une réduction de 68 % des chances de grossesse en cas d'adénomyose [37]. Cependant, ces données sont controversées puisqu'une étude prospective récente a montré que l'adénomyose asymptomatique n'affectait pas les taux d'implantation et de grossesse en FIV [38]. Compte tenu de la difficulté de la chirurgie conservatrice en matière d'adénomyose, le recours à l'AMP devrait, dans ce contexte, être privilégié. Les modalités de l'AMP en cas d'adénomyose sont peu étudiées. Les séries préliminaires plaident clairement pour un effet bénéfique des analogues de la GnRH,

prescrits pour une durée de 2 à 6 mois, sur les chances de grossesse [39, 40].

Conclusion

La prise en charge de l'endométriose dans un contexte d'infertilité exige une réflexion globale sur les chances de conception spontanée, mais aussi de faire le bilan exact de l'étendue des lésions endométriosiques ainsi que l'évaluation de leur impact clinique.

L'observation de cette stratégie permettrait d'éviter que le traitement proposé à la patiente endométriosique infertile ne dépende que de l'avis du premier médecin rencontré, comme c'est encore trop souvent le cas.

Références

[1] de Ziegler D, Borghese B, Chapron C. Endometriosis and infertility : pathophysiology and management. Lancet 2010 ; 376 : 730–8.
[2] Vercellini P, Somigliana E, Vigano P, et al. Surgery for endometriosis-associated infertility : a pragmatic approach. Hum Reprod 2009 ; 24 : 254–69.
[3] Stepniewska A, Pomini P, Bruni F, et al. Laparoscopic treatment of bowel endometriosis in infertile women. Hum Reprod 2009 ; 24 : 1619–25.
[4] Benaglia L, Somigliana E, Vercellini P, et al. Endometriotic ovarian cysts negatively affect the rate of spontaneous ovulation. Hum Reprod 2009 ; 24 : 2183–6.
[5] Leone Roberti Maggiore U, Scala C, Venturini PL, et al. Endometriotic ovarian cysts do not negatively affect the rate of spontaneous ovulation. Hum Reprod 2015 ; 30 : 299–307.
[6] Busacca M, Riparini J, Somigliana E, et al. Postsurgical ovarian failure after laparoscopic excision of bilateral endometriomas. Am J Obstet Gynecol 2006; 195 : 421–5.
[7] Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization : the Bologna criteria. Hum Reprod 2011 ; 26 : 1616–24.
[8] Streuli I, de Ziegler D, Gayet V, et al. In women with endometriosis anti-Mullerian hormone levels are decreased only in those with previous endometrioma surgery. Hum Reprod 2012 ; 27 : 3294–303.
[9] Raffi F, Metwally M, Amer S. The impact of excision of ovarian endometrioma on ovarian reserve : a systematic review and meta-analysis. J Clin Endocrinol Metab 2012 ; 97 : 3146–54.
[10] Wang G, Tokushige N, Fraser IS. Nerve fibers and menstrual cycle in peritoneal endometriosis. Fertil Steril 2011 ; 95 : 2772–4.
[11] Giudice LC, Telles TL, Lobo S, Kao L. The molecular basis for implantation failure in endometriosis : on the road to discovery. Ann N Y Acad Sci 2002 ; 955 : 252–64 discussion 93-5, 396-406.
[12] Pabona JM, Simmen FA, Nikiforov MA, et al. Kruppel-like factor 9 and progesterone receptor coregulation of decidualizing endometrial stromal cells : implications for the pathogenesis of endometriosis. J Clin Endocrinol Metab 2012 ; 97 : E376–92.
[13] Aghajanova L, Velarde MC, Giudice LC. Altered gene expression profiling in endometrium : evidence for progesterone resistance. Semin Reprod Med 2010 ; 28 : 51–8.
[14] Kamada Y, Nakatsuka M, Asagiri K, et al. GnRH agonist-suppressed expression of nitric oxide synthases and generation of peroxynitrite in adenomyosis. Hum Reprod 2000 ; 15 : 2512–9.
[15] Choi YS, Cho S, Lim KJ, et al. Effects of LNG-IUS on nerve growth factor and its receptors expression in patients with adenomyosis. Growth Factors 2010 ; 28 : 452–60.
[16] Surrey ES, Silverberg KM, Surrey MW, Schoolcraft WB. Effect of prolonged gonadotropin-releasing hormone agonist therapy on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer in patients with endometriosis. Fertil Steril 2002 ; 78 : 699–704.
[17] de Ziegler D, Gayet V, Aubriot FX, et al. Use of oral contraceptives in women with endometriosis before assisted reproduction treatment improves outcomes. Fertil Steril 2010 ; 94 : 2796–9.
[18] Dousset B, Leconte M, Borghese B, et al. Complete surgery for low rectal endometriosis : long-term results of a 100-case prospective study. Ann Surg 2010 ; 251 : 887–95.
[19] Meuleman C, Tomassetti C, D'Hoore A, et al. Surgical treatment of deeply infiltrating endometriosis with colorectal involvement. Hum Reprod Update 2011 ; 17 : 311–26.
[20] Chapron C, Santulli P, de Ziegler D, et al. Ovarian endometrioma : severe pelvic pain is associated with deeply infiltrating endometriosis. Hum Reprod 2012 ; 27 : 702–11.
[21] Jacobson TZ, Duffy JM, Barlow D, et al. Laparoscopic surgery for pelvic pain associated with endometriosis. Cochrane Database Syst Rev 2009 ; 4.
[22] Jacobson TZ, Duffy JM, Barlow D, et al. Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. Cochrane Database Syst Rev 2010 ; 1.
[23] Borghese B, Santulli P, Streuli I, et al. Recurrence of pain after surgery for deeply infiltrating endometriosis : How does it happen ? How to manage ? J Gynecol Obstet Biol Reprod 2014 ; 43 : 12–8.
[24] Garry R, Clayton R, Hawe J. The effect of endometriosis and its radical laparoscopic excision on quality of life indicators. BJOG 2000 ; 107 : 44–54.
[25] Guo SW. Recurrence of endometriosis and its control. Hum Reprod Update 2009 ; 15 : 441–61.
[26] Vercellini P, Crosignani PG, Abbiati A, et al. The effect of surgery for symptomatic endometriosis : the other side of the story. Hum Reprod Update 2009 ; 15 : 177–88.

[27] Gandhi AR, Carvalho LF, Nutter B, Falcone T. Determining the fertility benefit of controlled ovarian hyperstimulation with intrauterine insemination after operative laparoscopy in patients with endometriosis. J Minim Invasive Gynecol 2014; 21 : 101–8.

[28] Roman H, Quibel S, Auber M, et al. Recurrences and fertility after endometrioma ablation in women with and without colorectal endometriosis : a prospective cohort study. Hum Reprod 2015; 30 : 558–68.

[29] Roustan A, Perrin J, Debals-Gonthier M, et al. Surgical diminished ovarian reserve after endometrioma cystectomy versus idiopathic DOR : comparison of in vitro fertilization outcome. Hum Reprod 2015; 30 : 840–7.

[30] Ferrero S, Scala C, Racca A, et al. Second surgery for recurrent unilateral endometriomas and impact on ovarian reserve : a case-control study. Fertil Steril 2015; 103 : 1236–43.

[31] Muzii L, Achilli C, Lecce F, et al. Second surgery for recurrent endometriomas is more harmful to healthy ovarian tissue and ovarian reserve than first surgery. Fertil Steril 2015; 103 : 738–43.

[32] Somigliana E, Benaglia L, Paffoni A, et al. Risks of conservative management in women with ovarian endometriomas undergoing IVF. Hum Reprod Update 2015; 21 : 486–99.

[33] Guo YH, Lu N, Zhang Y, et al. Comparative study on the pregnancy outcomes of in vitro fertilization-embryo transfer between long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist combined with transvaginal ultrasound-guided cyst aspiration and long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist alone. Contemp Clin Trials 2012; 33 : 1206–10.

[34] Somigliana E, Vigano P, Filippi F, et al. Fertility preservation in women with endometriosis : for all, for some, for none? Hum Reprod 2015; 30 : 1280–6.

[35] Naftalin J, Hoo W, Pateman K, et al. How common is adenomyosis? A prospective study of prevalence using transvaginal ultrasound in a gynaecology clinic. Hum Reprod 2012; 27 : 3432–9.

[36] Vercellini P, Consonni D, Dridi D, et al. Uterine adenomyosis and in vitro fertilization outcome : a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod 2014; 29 : 964–77.

[37] Vercellini P, Consonni D, Barbara G, et al. Adenomyosis and reproductive performance after surgery for rectovaginal and colorectal endometriosis : a systematic review and meta-analysis. Reprod Biomed Online 2014; 28 : 704–13.

[38] Benaglia L, Cardellicchio L, Leonardi M, et al. Asymptomatic adenomyosis and embryo implantation in IVF cycles. Reprod Biomed Online 2014; 29 : 606–11.

[39] Tremellen K, Russell P. Adenomyosis is a potential cause of recurrent implantation failure during IVF treatment. Aust N Z J Obstet Gynaecol 2011; 51 : 280–3.

[40] Niu Z, Chen Q, Sun Y, Feng Y. Long-term pituitary downregulation before frozen embryo transfer could improve pregnancy outcomes in women with adenomyosis. Gynecolo Endocrinol 2013; 29 : 1026–30.

Pathologies endocrines (hors axe hypothalamo-hypophyso-ovarien) et infertilité

Chapitre 7

C. Sonigo, C. Vinolas, H. Gronier, J.-N. Hugues

De nombreuses pathologies endocriniennes peuvent se rencontrer au cours d'une prise en charge en médecine de la reproduction. Alors que certaines peuvent être une cause de l'infertilité du couple, d'autres nécessitent une prise en charge spécifique avant ou pendant la grossesse.

Les hypogonadismes hypogonadotropes et le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) faisant l'objet d'un chapitre spécifique, nous n'abordons ici que les autres endocrinopathies fréquentes, telles que l'hyperprolactinémie, les pathologies thyroïdiennes ou surrénaliennes ainsi que l'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) en évaluant leur impact sur la fertilité et en discutant les principes de leur prise en charge.

Hyperprolactinémie

L'hyperprolactinémie est définie par une élévation de la concentration plasmatique de prolactine au-delà de la limite supérieure des valeurs présentes dans la population normale (15 à 25 ng/mL selon les méthodes utilisées). La plus haute incidence a été mise en évidence chez les femmes de 25 à 34 ans [1].

Devant toute hyperprolactinémie, il faut, en premier lieu, contrôler le dosage dans des conditions précises : patiente au repos depuis 15–20 minutes, absence de tout stress. Si l'hyperprolactinémie est confirmée, il est d'usage, en l'absence de cause évidente, d'éliminer une macroprolactinémie par la réalisation d'une chromatographie de la prolactine. Celle-ci peut révéler la présence de formes multimériques de prolactine de masse élevée (big et big-big prolactine), sans activité biologique et induisant un faux diagnostic d'hyperprolactinémie.

L'hyperprolactinémie pathologique est, en général, associée à des troubles de l'ovulation et des troubles du cycle. C'est, en effet, la principale étiologie d'hypogonadisme hypogonadotrope acquis et une des étiologies les plus fréquentes de trouble du cycle. Toutes causes confondues, elle représente environ 15 % des aménorrhées secondaires chez la femme jeune [2]. L'hyperprolactinémie peut induire différents tableaux cliniques allant du classique syndrome « aménorrhée–galactorrhée », à l'aménorrhée ou oligo-spanioménorrhée isolée, voire à des cycles anovulatoires mais de durée sensiblement normale. L'hyperprolactinémie, observée principalement chez les femmes jeunes en âge de procréer, représente ainsi une cause essentielle d'infertilité par anovulation, en deuxième position après le SOPK.

Le dysfonctionnement gonadique est lié à une atteinte hypothalamique par altération de la sécrétion de GnRH *(gonadotropin-releasing hormone)*. Selon des théories anciennes, le déficit gonadotrope serait secondaire à une augmentation du tonus dopaminergique qui inhiberait la pulsatilité de la GnRH ou à une action directe sur les neurones à GnRH, mais ces mécanismes sont largement controversés. Une étude récente démontre le rôle des kisspeptines, stimulateurs majeurs de l'axe gonadotrope, dans le déficit gonadotrope secondaire à l'hyperprolactinémie [3]. Cette physiopathogénie, validée chez les rongeurs, semble

également valable chez la femme. En effet, comme chez les souris, les kisspeptines sont un des plus puissants stimulateurs de la GnRH et des injections de kisspeptines à des femmes en aménorrhée hypothalamique induisent une reprise de la pulsatilité de la LH *(luteinizing hormone)* [4].

Concernant la fonction utérine et notamment endométriale, plusieurs études montrent l'existence d'une hyperplasie associée à une hyperprolactinémie, notamment dans le modèle murin.

En cas d'hyperprolactinémie avérée, un bilan étiologique doit être réalisé, *a fortiori* si la patiente présente des cycles anovulatoires.

Les principales causes d'hyperprolactinémie sont :

- les adénomes hypophysaires : c'est l'étiologie la plus fréquente. Dans la majorité des cas, les adénomes à prolactine sont bénins et sécrètent uniquement de la prolactine. Cependant, les adénomes mixtes sécrétant à la fois de la prolactine et de l'hormone de croissance ne sont pas rares et nécessitent une prise en charge spécifique;
- les hyperprolactinémies dites de déconnexion (liées à la levée du tonus inhibiteur de la dopamine par compression ou destruction de la tige pituitaire) par lésions tumorales suprahypophysaires (craniopharyngiome, dysgerminome) ou lésions infiltratives (sarcoïdose, tuberculose);
- les causes médicamenteuses (neuroleptiques par exemple);
- certaines situations physiologiques : grossesse, allaitement;
- le SOPK : il est souvent associé à une hyperprolactinémie modérée (rarement au-delà de 40 ng/mL), probablement secondaire à l'état d'hyperœstrogénie chronique.

Lorsqu'une hyperprolactinémie est diagnostiquée au cours d'un bilan d'infertilité, le pronostic de grossesse est excellent si le reste du bilan est normal. En effet, le traitement par agoniste dopaminergique restaure une prolactinémie normale et des cycles ovulatoires dans 80 à 90 % des cas. Alors que la bromocriptine (Parlodel®) est le traitement de référence en cas de désir de grossesse, la cabergoline (Dostinex®) semble être une bonne alternative avec un taux de grossesses très satisfaisant après traitement et une absence d'effets secondaires sur le déroulement de la grossesse et le développement fœtal. Le traitement chirurgical a des indications limitées sauf dans les cas d'adénome mixte où il est systématique.

Pathologies thyroïdiennes

Hypothyroïdie

L'hypothyroïdie est une pathologie qui touche environ 2 à 4 % femmes en âge de procréer. Les causes les plus fréquentes d'hypothyroïdie sont la carence iodée (cause la plus fréquente au niveau mondial mais rare en France où les apports en iode sont suffisants en dehors de la grossesse et l'allaitement) et la thyroïdite auto-immune de Hashimoto. Cette thyroïdite est caractérisée par la présence dans la circulation d'auto-anticorps, notamment les anti-thyropéroxidase (anti-TPO) et les anticorps antithyroglobuline (anti-TG) de sensibilité moindre. Les symptômes pouvant faire rechercher une hypothyroïdie sont la présence d'un goître, une prise de poids, un ralentissement psychomoteur, une sensation de froid. Le diagnostic repose, en première intention, sur une réduction de la T4 plasmatique libre associée à une franche élévation de la TSH. Dans ce cas, la recherche d'anticorps anti-TPO s'avère nécessaire. Notons, à cet égard, que le dosage de T3 libre ou totale n'a aucun intérêt pour le diagnostic d'hypothyroïdie car la production de T3 résulte principalement de la conversion périphérique (foie, rein) de la T4. Un syndrome de T3 basse isolé, rencontré dans nombre de situations cataboliques, ne traduit, en aucun cas, une hypothyroïdie vraie mais une simple mesure de régulation énergétique. Une hypothyroïdie fruste est définie par une augmentation de la *thyroid stimulating hormone* ou TSH (supérieure à 4 mUI/L) sans modification des taux de T4 libre. Elle peut être associée ou non à la présence d'anticorps.

Chez les patientes consultant pour infertilité, la prévalence de l'hypothyroïdie fruste est variable, entre 2 et 14 % [5]. Elle est augmentée chez les patientes présentant des troubles du cycle. Cependant, sa physiopathologie demeure mal connue, le rôle de l'hyperprolactinémie qui serait induite pas une élévation importante de la *thyrotrophin releasing hormone* (TRH) n'apparaissant que relatif même en cas d'hypothyroïdie sévère. La présence isolée d'anticorps anti-TPO au 1er trimestre de grossesse a été retrouvée corrélée à un sur-risque d'infertilité inexpliquée. De plus, une élévation de la TSH et/ou la présence d'anticorps anti-TPO ont également été identifiées comme responsables

de fausses couches spontanées (FCS) et de FCS à répétition, de pré-éclampsie, de sur-mortalité périnatale, de poids de naissance diminué, et de prématurité. À l'heure actuelle, l'*American Thyroid Association* (ATA) recommande le dosage de la TSH chez une patiente consultant pour infertilité [6]. Par ailleurs, le dosage de la TSH et la recherche d'anticorps antithyroïdiens doivent faire partie du bilan de FCS à répétition.

En dehors d'un contexte de grossesse ou de désir de grossesse, le traitement repose sur la substitution par lévothyroxine synthétique *per os*. Les recommandations américaines de l'*American Association of clinical endocrinologists* (AACE) et l'*American Thyroid Association* (AACE/ATA) publiées en 2011 [6] préconisent l'instauration d'une opothérapie lorsque :

- la TSH est supérieure à 10 mUI/L ;
- la TSH est comprise entre 4 et 10 mUI/L en présence d'anti-TPO. En effet, la présence des anticorps anti-TPO augmente le risque de développer une hypothyroïdie.

L'hypothyroïdie traitée n'est pas un facteur de risque d'infertilité ou de pathologie obstétricale. Cependant, en cas d'opothérapie insuffisante lors de la grossesse, il existe un sur-risque d'hypertension artérielle gravidique et de pré-éclampsie ainsi que, chez l'enfant issu de ces grossesses, une baisse du quotient intellectuel moyen. Le fonctionnement thyroïdien étant modifié pendant la grossesse, l'opothérapie doit être majorée de 30 à 50 % dès la connaissance de la grossesse, au maximum entre 4 et 6 semaines d'aménorrhée (SA) avec pour objectif une TSH inférieure à 2,5 mUI/L pendant le premier trimestre [6], afin de diminuer les complications de l'hypothyroïdie maternelle et de prévenir le risque de FCS [7]. Par extension, l'objectif de TSH sous traitement est abaissé à 2,5 mUI/L dès la période périconceptionnelle chez les patientes présentant une hypothyroïdie connue.

Hyperthyroïdie

L'hyperthyroïdie est moins fréquente que l'hypothyroïdie et concerne moins de 1 % des grossesses. L'étiologie la plus fréquente est la maladie de Basedow.

Une hyperthyroïdie peut être responsable d'infertilité. Des troubles du cycle sont retrouvés dans environ 20 % des cas. Ils peuvent être liés à des modifications de l'axe gonadotrope expliquées par une augmentation des concentrations circulantes de la *sex hormone binding protein* (SHBG). Cette augmentation de la protéine porteuse des hormones stéroïdes peut induire une augmentation des estrogènes et des androgènes. Par ailleurs, en cas d'hyperthyroïdie, la LH et la *follicle-stimulating hormone* (FSH) plasmatiques sont parfois augmentées, sans altération de leur pulsatilité.

Une hyperthyroïdie maternelle non équilibrée peut être également responsable de complications maternelles (insuffisance cardiaque principalement) mais surtout obstétricales comme la prématurité, le retard de croissance intra-utérin, le diabète gestationnel nécessitant le recours à une césarienne. Les risques pour l'enfant à naître sont la survenue d'une thyrotoxicose fœtale ou néonatale ainsi que la survenue d'autisme et d'hyperactivité. L'ensemble de ces complications de l'hyperthyroïdie est diminué par l'administration des antithyroïdiens de synthèse. Le recours au propytlthiouracil (PTU) paraît préférable aux autres antithyroïdiens de synthèse (type Néomarcazole®) pour réduire les risques tératogènes. De même, l'IRAthérapie (iode 131) n'est pas conseillée en première intention chez la femme jeune.

Ainsi, le traitement d'une hyperthyroïdie authentifiée est primordial avant d'envisager une grossesse. En cas de désir de grossesse rapide, ou si échec de traitement médical, la chirurgie thyroïdienne peut être proposée mais une opothérapie substitutive sera nécessaire à vie.

Pathologies surrénaliennes

Hyperplasie congénitale des surrénales

La principale pathologie surrénalienne pouvant impacter la fertilité est l'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS). Il s'agit d'une pathologie génétique de transmission autosomique récessive. Le déficit en 21-hydroxylase, en rapport avec les mutations du gène *CYP21A2*, est impliqué dans 90 à 95 % des cas. Plusieurs mutations peuvent être retrouvées. Le degré variable de déficit est fonction du type de mutation avec une bonne corrélation génotype/phénotype. Les patientes atteintes

d'HCS peuvent être homozygotes ou hétérozygotes composites, l'expression de la maladie étant déterminée par la mutation la moins sévère.

Le déficit en 21-hydroxylase entraîne une augmentation de la sécrétion des précurseurs du cortisol, en particulier de la 17-hydroxy-progestérone (17-OHP) et de la progestérone mais aussi des androgènes surrénaliens dont la delta-4-androstenedione.

Selon le degré du déficit, il existe plusieurs formes cliniques allant de la forme classique (FC) sévère, à révélation néonatale avec déficit en aldostérone et perte de sel à la forme non classique (FNC), à révélation tardive. La FNC peut être diagnostiquée dans le cadre d'un bilan d'hyperandrogénie clinique, de dysovulation ou d'infertilité. Du fait des similitudes cliniques, la FNC du déficit en 21-hydroxylase est le principal diagnostic différentiel du SOPK. Le diagnostic peut également être porté devant une augmentation du taux de progestérone en phase folliculaire ou après désensibilisation de l'axe gonadotrope chez des patientes suivies en aide médicale à la procréation.

Le diagnostic biologique repose sur le dosage de la 17-OHP plasmatique de base et après stimulation par 0,25 mg de Synacthène®. Ce dosage doit impérativement être réalisé le matin à jeun, en première partie de cycle chez les femmes ovulatoires et à distance d'un traitement par glucocorticoïdes. Si l'objectif est d'écarter formellement le diagnostic de déficit en 21-hydroxylase, certains préconisent ce test de manière systématique, quelle que soit la valeur de 17-OHP de base. La valeur seuil de 10 ng/mL après injection de Synacthène® est la plus communément admise pour détecter cette pathologie.

L'origine de l'infertilité parfois présente chez les patientes présentant une FNC est multifactorielle. Elle peut être secondaire à une anovulation chronique et/ou à des anomalies endométriales. Les troubles du cycle, retrouvés chez environ 50 % des patientes, peuvent être expliqués par :

- l'hypersécrétion permanente d'androgènes surrénaliens qui ont un effet ovarien via des récepteurs présents sur les cellules de la granulosa ;
- l'hyperœstrogénie secondaire à l'aromatisation des androgènes et qui exercerait un rétrocontrôle négatif continu sur l'axe hypothalamo-hypophysaire entraînant une perte de cyclicité de la sécrétion des gonadotrophines d'où une perturbation de l'ovulation ;
- l'hypersécrétion de progestérone responsable également d'une altération de la maturation endométriale et de la glaire cervicale.

Par ailleurs, une augmentation du risque de FCS est constatée dans cette population. Cependant, dans ce contexte, la fertilité spontanée de ces patientes n'est que rarement altérée bien qu'améliorée par des traitements ponctuels par glucocorticoïdes. Ainsi, chez des patientes porteuses d'une FNC de bloc en 21-hydroxylase, un traitement par hydrocortisone peut être mis en place pour tenter d'améliorer la fertilité et éviter un sur-risque de FCS.

Le traitement des FNC est symptomatique. En cas d'hyperandrogénie, les traitements anti-androgènes sont les plus efficaces. En cas de désir de grossesse ou de prise en charge en assistance médicale à la procréation (AMP), le traitement par glucocorticoïde, exerce un rétrocontrôle négatif sur l'*adrenocorticotropic hormone* (ACTH), réduisant ainsi la sécrétion des androgènes surrénaliens et de leurs précurseurs. Il permet, de ce fait, de normaliser les taux d'hormones stéroïdiennes dans près de 90 % des cas et d'améliorer la régularité des cycles menstruels et l'implantation.

Avant d'envisager une grossesse, il est primordial d'informer la patiente du risque de transmission de la pathologie à la descendance. En effet, dans la FNC, la patiente peut être porteuse soit de deux mutations non sévères, soit d'une mutation sévère associée à une mutation non sévère. Le dépistage du conjoint doit être systématique, avant tout projet parental, en cas de présence d'une mutation sévère sur l'un des deux allèles. Ce dépistage peut être réalisé en deux temps, avec un premier dépistage biologique par dosage du 21-désoxycortisol après stimulation par Synacthène® puis par analyse moléculaire. Si la grossesse est à risque (mutation sévère chez les deux parents), le couple doit être pris en charge dans une structure spécialisée dès l'annonce de la grossesse. La mère doit débuter un traitement par déxamethasone avant 8 SA afin de prévenir la virilisation d'un fœtus féminin. Une détermination du sexe sur sang fœtal maternel peut être réalisée rapidement. En cas de fœtus féminin, le traitement est poursuivi jusqu'au diagnostic moléculaire qui peut être réalisé à partir de 11–12 SA. En cas d'atteinte sévère, le traitement peut être poursuivi pendant toute la grossesse et une prise en charge néonatale sera à prévoir.

Syndrome de Cushing

Le syndrome de Cushing correspond à une sécrétion excessive de cortisol par la corticosurrénale. L'hypercortisolisme peut être secondaire à une tumeur surrénalienne, bénigne (adénome surrénalien) ou maligne (cortico-surrénalome), sécrétant de façon autonome du cortisol. Il peut également être lié à la stimulation de la surrénale parfois secondaire à des tumeurs hypophysaires ou ectopiques sécrétant excessivement de l'ACTH. Les signes évocateurs d'un syndrome de Cushing sont : une prise de poids, une obésité et érythrose faciale, une atrophie musculaire prédominant sur les cuisses, un diabète, une hypertension artérielle, une ostéoporose. L'hypersécrétion de cortisol peut également entraîner une hyperandrogénie clinique, une aménorrhée par déficit gonadotrope et une infertilité par dysovulation. Ainsi, le syndrome de Cushing est également un diagnostic différentiel du SOPK.

Afin de confirmer une hypersécrétion de cortisol, l'évaluation du cortisol libre urinaire des 24 heures est un des examens les plus fiables. En cas de normalité, le diagnostic de syndrome de Cushing peut être éliminé. Pour confirmer le diagnostic, d'autres examens complémentaires doivent être prescrits comme un dosage du cortisol sanguin ou salivaire à minuit et un test de freinage minute à la dexaméthasone. Une fois l'hypercortisolisme confirmé, il est important de rechercher la cause de cette hypersécrétion de cortisol par un test de freinage fort, un dosage d'ACTH, une imagerie surrénalienne ou hypophysaire.

La prise en charge de l'infertilité dans cette situation pathologique est contre-indiquée jusqu'à la guérison du syndrome. Lorsqu'une grossesse est autorisée par l'endocrinologue, un bilan métabolique et vasculaire doit être réalisé avant la mise en route du projet parental.

Insuffisance ovarienne prématurée

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est définie par une aménorrhée de plus de 4 mois, liée à un hypogonadisme hypergonadotrope (taux de FSH en phase folliculaire > 30 UI/L sur deux prélèvements à 1 mois d'intervalle), avant l'âge de 40 ans [8]. Elle touche environ 1 % des femmes dans la population générale. Hormis les complications liées à l'hypo-œstrogénie chronique (ostéoporose, risque cardiovasculaire), la principale conséquence de l'IOP est l'infertilité. Les taux de grossesses spontanées, dans le cadre d'une IOP avérée, sont estimés entre 3 et 10 % [9].

Dans 90 % des cas, l'IOP est idiopathique. L'origine est en majorité génétique : syndrome de Turner, prémutation du gène *FMR1*, mutations des gènes *FOXL2*, *FSH*, *FSHR*, *BMP15*, *GDF9*, *NOBOX*… Les causes iatrogènes sont également fréquentes : post-chimiothérapie, post-radiothérapie pelvienne, post-chirurgie ovarienne. Enfin, rarement, une origine auto-immune est en cause. Le bilan étiologique de première intention comporte un caryotype à la recherche d'un syndrome de Turner et la recherche d'une prémutation du gène *FMR1*. La recherche des autres mutations et de la présence d'anticorps anti-ovaire n'est pas réalisée en routine.

Le syndrome de Turner, touchant environ 1/2500 à 1/3000 naissances féminines, est l'anomalie chromosomique la plus fréquente chez les filles. Il se caractérise par une monosomie totale ou partielle, ou une anomalie de structure de l'un des deux chromosomes X responsable, notamment, d'une dysgénésie gonadique. C'est la première cause chromosomique d'IOP. Le mécanisme de la déplétion folliculaire serait une accélération de l'atrésie folliculaire physiologique. Dans la majorité des cas, l'IOP est précoce, se manifestant par un impubérisme et une aménorrhée primaire, des ovaires de petite taille (ou en bandelette) voire absents, ainsi qu'une hypoplasie utérine par hypo-œstrogénie. Cependant, le tableau clinique peut être très variable, en fonction du stock folliculaire résiduel. Ainsi, jusqu'à 25 % des patientes présentent un certain degré de développement pubertaire spontané. Une ménarche spontanée est décrite dans 2 à 5 % des cas [10]. L'infertilité primaire touche 95 à 98 % des patientes. Les grossesses spontanées sont rares, de l'ordre de 2 à 6 % et surviennent en majorité chez des patientes présentant un caryotype mosaïque ou une délétion distale de Xp (102), exceptionnellement chez des patientes 45, X0.

La prévalence de l'IOP chez les femmes porteuses d'une prémutation *FMR1* est estimée entre 13 et 26 %. Le risque d'IOP est corrélé au nombre de triplets CGG selon une relation non linéaire : il serait relativement faible entre 60 et 79 répétitions,

maximal entre 80 et 99 et intermédiaire au-delà de 100 triplets. Une prémutation est retrouvée dans 0,8 à 7,5 % des cas d'IOP sporadique et dans plus de 13 % des cas d'IOP familiale [11]. Les femmes porteuses d'une mutation complète ne présentent pas de sur-risque d'IOP. Outre une IOP avérée, ces femmes peuvent présenter une altération de la fonction reproductive se traduisant par une irrégularité menstruelle, un raccourcissement de la phase folliculaire, une augmentation du taux de FSH ou une diminution du taux d'*anti-mullerian hormone* (AMH) par rapport à des patientes du même âge non porteuses. Chez des patientes présentant une insuffisance ovarienne occulte (c'est-à-dire patientes présentant une baisse de la réserve ovarienne mais conservant des cycles réguliers), la prévalence de la prémutation est plus élevée.

La prise en charge de l'infertilité dépend de la sévérité de l'IOP. Le don d'ovocytes doit être proposé lorsque l'IOP est réellement avérée. En outre, une prise en charge en préservation de la fertilité peut être proposée si le diagnostic est posé suffisamment tôt et s'il persiste une activité ovarienne résiduelle. Par ailleurs, la prise en charge de l'infertilité des patientes présentant un syndrome de Turner ou une prémutation du gène *FMR1* pose certains problèmes spécifiques. Dans le cadre du syndrome de Turner, le pronostic de la grossesse est réservé compte tenu des possibles complications cardiovasculaires et un bilan à la recherche de malformations cardiaques ou aortiques doit être systématique avant toute prise en charge, y compris avant don d'ovocytes. Dans le cadre d'une prémutation *FMR1*, le risque de transmission à la descendance d'un syndrome de l'X fragile, première cause génétique de retard mental chez le garçon, doit être évoqué, et une prise en charge en diagnostic pré-implantatoire ou prénatal doit être proposée. Enfin, la prescription d'un traitement hormonal substitutif ne doit pas être oubliée afin de prévenir les risques ostéoporotiques et cardiovasculaires liés à la carence œstrogénique, et améliorer le confort de ces patientes (bouffées vaso-motrices, sécheresse vaginale…).

Ainsi, la recherche d'une endocrinopathie est indispensable au cours de la prise en charge d'une infertilité féminine, surtout si la patiente présente des troubles de l'ovulation. Les explorations doivent être guidées par l'interrogatoire et l'examen clinique. La mise en place d'un traitement spécifique permet d'améliorer le plus souvent le pronostic de fertilité et de participer à la prise en charge globale des patientes.

Références

[1] Kars M, et al. Estimated age- and sex-specific incidence and prevalence of dopamine agonist-treated hyperprolactinemia. J Clin Endocrinol Metab 2009 ; 94 : 2729–34.

[2] Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Current evaluation of amenorrhea. Fertil Steril 2008 ; 90 : S219–25.

[3] Sonigo C, et al. Hyperprolactinemia-induced ovarian acyclicity is reversed by kisspeptin administration. J Clin Invest 2012 ; 122 : 3791–5.

[4] Jayasena CN, et al. Subcutaneous injection of kisspeptin-54 acutely stimulates gonadotropin secretion in women with hypothalamic amenorrhea, but chronic administration causes tachyphylaxis. J Clin Endocrinol Metab 2009 ; 94 : 4315–23.

[5] Gronier H, Sonigo C, Jacquesson L. Impact of thyroid function on fertility. Gynecol Obstet Fertil 2015 ; 43 : 225–33.

[6] Stagnaro-Green A, et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. Thyroid Off J Am Thyroid Assoc 2011 ; 21 : 108–25.

[7] Vissenberg R, et al. Treatment of thyroid disorders before conception and in early pregnancy : a systematic review. Hum Reprod Update 2012 ; 18 : 360–73.

[8] Beck-Peccoz P, Persani L. Premature ovarian failure. Orphanet J Rare Dis 2006 ; 1 : 9.

[9] Letur H, Martin-Pont B, Fénichel P, GEDO. Spontaneous pregnancies and premature menopause. Gynecol Obstet Fertil 2004 ; 32 : 748–55.

[10] Abir R, et al. Turner's syndrome and fertility : current status and possible putative prospects. Hum Reprod Update 2001 ; 7 : 603–10.

[11] Murray A, et al. Population-based estimates of the prevalence of FMR1 expansion mutations in women with early menopause and primary ovarian insufficiency. Genet Med Off J Am Coll Med Genet 2014 ; 16 : 19–24.

La spermatogenèse

CHAPITRE 8

J.-F. Guérin

La spermatogenèse se définit comme l'évolution de la lignée germinale mâle, aboutissant à la production de spermatozoïdes, résultat de l'évolution d'une spermatogonie souche.

La spermatogenèse se déroule dans les tubes séminifères (TS) des testicules, eux-mêmes contenus dans des lobules (dont le nombre est estimé entre 200 et 300). Ces TS sont entourés par une membrane propre constituée de myofibroblastes et de fibres ; ils sont pelotonnés sur eux-mêmes, leur longueur déroulée est estimée à près d'un mètre. Ainsi, sur une biopsie, vont apparaître plusieurs sections d'un même tube.

À l'intérieur du TS, on trouve deux types de cellules : les cellules constituant la lignée germinale (des spermatogonies aux spermatozoïdes), et des cellules somatiques – les cellules de Sertoli – qui entretiennent des rapports étroits avec les cellules germinales.

Mise en place et évolution de la spermatogenèse au cours de l'ontogenèse

Les cellules germinales primordiales colonisent le testicule en formation et se différencient en spermatogonies souches au cours du 2e mois embryonnaire. Les cellules de Sertoli se multiplient et se différencient au cours de la vie intra-utérine, mais également dans les premiers mois après la naissance, sous l'effet d'une élévation fugace des hormones gonadotropes FSH *(follicle-stimulating hormone) et LH (luteinizing hormone)* : on a pu parler de « mini-puberté » [1].

Ces périodes pré- et péri-natales sont donc cruciales pour la spermatogenèse, dans la mesure où son bon déroulement, à partir de la puberté, dépend du nombre et de la qualité des cellules de Sertoli.

Pendant toute l'enfance, les testicules restent petits, et sur une coupe de tube séminifère on ne verrait que des spermatogonies et des noyaux sertoliens. La puberté est caractérisée par l'élévation progressive des taux de gonadotrophines, qui va avoir pour conséquence un démarrage de la spermatogenèse, aboutissant à la production de spermatozoïdes.

Déroulement de la spermatogenèse

Chez l'homme comme chez tous les mammifères, celle-ci comprend trois étapes :

- une phase de multiplication ;
- une phase de méiose ;
- une phase de différenciation : la spermiogenèse.

Phase de multiplication

Elle concerne les spermatogonies.

On en distingue trois types : Ad, Ap et B. Les différences entre elles sont peu évidentes en microscopie optique. On les différencie principalement par l'aspect de la chromatine nucléaire : sombre pour les Ad (dark), claire pour les Ap (pale), en amas pour les B. Les spermatogonies Ad constituent le *pool* de réserve ; on peut les considérer comme les spermatogonies souches.

Le mode de division des spermatogonies Ad, décrit il y a de nombreuses années par Clermont [2], est particulier dans le sens où les deux cellules filles ont des destinées différentes : l'une reste strictement identique à la cellule mère, l'autre évolue en spermatogonie Ap. Ainsi, le *pool* des cellules de réserve reste en théorie conservé à l'identique. La division des cellules Ap aboutit à deux cellules filles évoluant en spermatogonies B, qui subissent une ultime division pour donner deux spermatocytes I qui répliquent leur ADN pour se préparer à la méiose. Ils ont donc un contenu « 4C » d'ADN ; on parle de stade « préléptotène ».

Phase de méiose

Le spermatocyte I (dit « de premier ordre ») rentre en première division de méiose, caractérisé par une prophase longue et complexe. Celle-ci aboutit à la formation de deux cellules filles à 23 chromosomes (spermatocytes II), constitués de deux chromatides remaniées par les *crossing-over*, donc ayant un contenu « 2C » d'ADN. La deuxième division méiotique s'enclenche immédiatement, elle est beaucoup plus courte que la première, et aboutit à la constitution de quatre spermatides contenant 23 chromosomes à un chromatide (soit un contenu « 1C » d'ADN).

Phase de différenciation : la spermiogenèse

La spermiogenèse correspond à un ensemble de transformations morphologiques et physiologiques qui aboutit à la transformation d'une cellule sans particularité (la spermatide ronde) en une cellule hautement différenciée : la spermatide allongée, qui va elle-même évoluer en spermatozoïde. On distingue trois événements principaux sur le plan morphologique (figure 8.1) :

- la formation de l'acrosome, à partir de vésicules golgiennes qui vont fusionner, pour constituer une grosse vésicule dite « acrosomique ». Celle-ci va s'étaler progressivement jusqu'à recouvrir les deux tiers antérieurs du noyau, tandis que

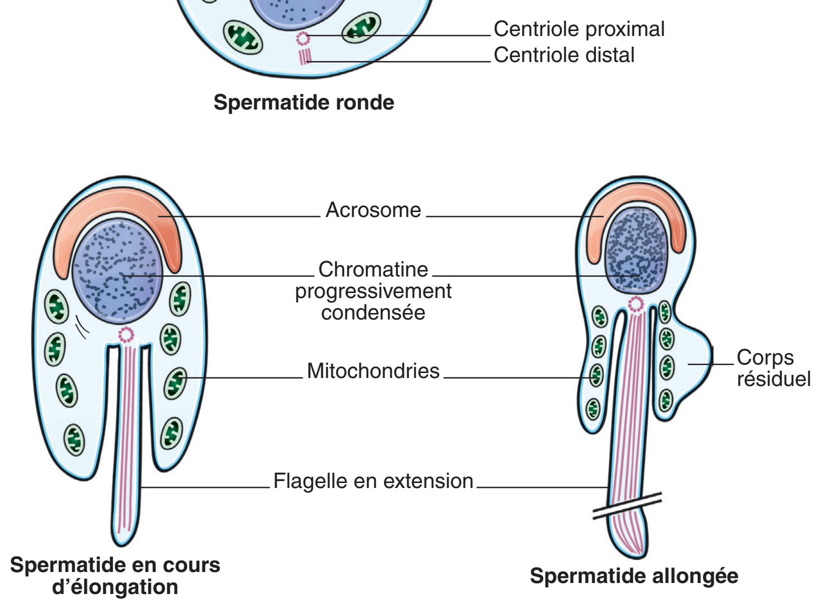


Figure 8.1 La spermiogenèse.

son contenu se densifie. L'acrosome constitue un sac bourré d'enzymes (hyaluronidase, acrosine…). Au cours de la fécondation, la liaison à la zone pellucide de l'ovocyte déclenche la réaction acrosomique consistant en la formation de petites vésicules entre la membrane cellulaire et la membrane acrosomique externe, et aboutissant à la libération du contenu acrosomique ;
- la formation du flagelle, à partir d'un des deux centrioles : le centriole distal ; celui-ci est à l'origine de la formation et de l'extension de doublets de microtubules constituant l'axonème, autour duquel vont s'organiser des structures dites « péri-axonémales ». Dans le même temps, on assiste à un glissement de la membrane cellulaire en direction du flagelle naissant, entraînant le cytoplasme avec ses mitochondries, qui vont s'organiser en un manchon autour du flagelle. Une partie importante du cytoplasme sera considérée comme excédentaire et sera éliminée sous la forme d'un « corps résiduel » au moment de la spermiation ;
- la condensation de la chromatine : celle-ci est progressive au cours de la spermiogenèse. Elle est due essentiellement à un remplacement de la majorité des histones (nucléoprotéines basiques associées à l'ADN dans toutes les cellules) par des protamines codées par le génome haploïde. Ces protamines, riches en arginine, vont compacter la chromatine de manière impressionnante, en « cassant » l'organisation classique en nucléosomes. Le bon déroulement de cette condensation est important pour l'avenir, car elle assurera la protection du génome du spermatozoïde contre les agressions ultérieures, d'abord dans les voies génitales masculines, puis dans le tractus féminin, lorsque le gamète mâle remontera en direction des trompes. Il est actuellement admis qu'un défaut de condensation peut se traduire par un pourcentage plus élevé de spermatozoïdes avec un ADN fragmenté.

La spermiogenèse s'achève par la spermiation, c'est-à-dire la libération des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère. Le rôle des cellules de Sertoli est très important, car elles phagocytent le résidu cytoplasmique et pourraient par là exercer une ultime régulation sur la spermatogenèse. Ainsi, un pourcentage anormalement élevé de spermatozoïdes ayant gardé leur résidu cytoplasmique, noté dans le spermocytogramme, peut traduire un dysfonctionnement sertolien.

La gamète mâle : le spermatozoïde

À l'issue de la spermiation, le spermatozoïde, dont la longueur est d'environ 50 à 60 μm, a acquis sa morphologie définitive, toutefois sa maturation n'est pas achevée : ce n'est qu'à l'issue du transit dans l'épididyme, dont la durée est estimée à 10 à 12 jours dans l'espèce humaine, que le spermatozoïde aura acquis une mobilité progressive (qui ne s'exprimera néanmoins qu'après l'éjaculation), ainsi que la capacité à reconnaître et se lier à la zone pellucide.

Sa structure [3] est représentée dans la figure 8.2. On distingue une tête, pyriforme, d'environ 5 μm de long, et un flagelle dont la longueur est d'environ 50 μm, comprenant deux parties : la pièce intermédiaire qui contient les mitochondries disposées en gaine hélicoïdale, et la pièce principale où la gaine fibreuse, également de disposition hélicoïdale, remplace la gaine mitochondriale (la gaine fibreuse et les fibres denses représentent les structures péri-axonémales).

Le cycle spermatogénétique

Il définit l'ensemble des événements, à l'échelle cellulaire, compris entre l'entrée en mitose d'une spermatogonie Ad et la libération de 16 spermatozoïdes qui en dérivent. La durée de ce cycle est estimée à 74 jours [2] et le rendement théorique est de seize (figure 8.3), ce qui le place parmi les plus faibles chez les mammifères, en raison du faible nombre d'étapes de la phase de multiplication. Dans la réalité, ce rendement est plus faible, car des phénomènes d'apoptose existent à toutes les étapes et pourraient concerner jusqu'à près de la moitié des cellules. Au total, on peut considérer que l'efficacité de la spermatogenèse dans l'espèce humaine est une des plus faibles parmi les mammifères.

Tout laisse à penser que lors d'une destruction partielle de la lignée germinale, par exemple après une chimiothérapie, la première étape de « reconstruction » va consister en un repeuplement des spermatogonies. Ce n'est qu'une fois le *pool* reconstitué, au moins partiellement, que les phases de méiose et de spermiogenèse s'enclencheront, ce qui se traduira par la réapparition de spermatozoïdes dans l'éjaculat.

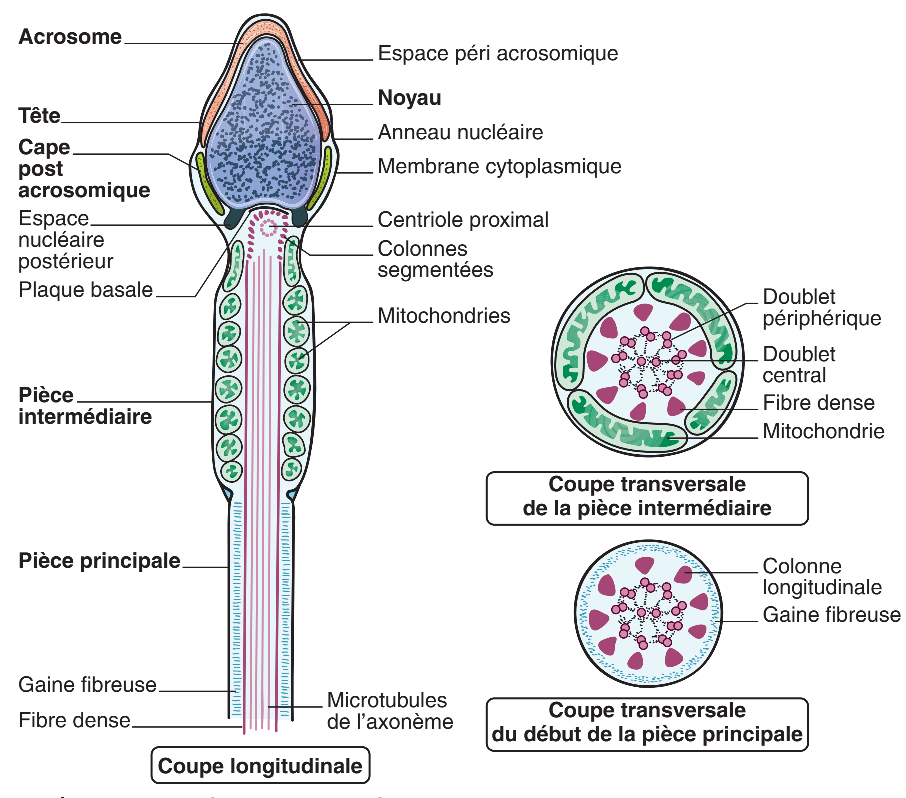


Figure 8.2 Ultrastructure du spermatozoïde.

Multiplications des cellules souches
Meïose
Spermiogenèse
DURÉE
27 jours de Ap à SP I
23 jours SP I
1 jour de SP I à SP II
23 jours
SPERMIOGENÈSE
Renouvellement des spermatogonies Ad
Spermatogonie Ad
1 spermatogonie Ap
LIGNÉE GERMINALE
Spermatogonie B
Spermatocyte I
Croissance et meïose I
Spermatocyte II
Meïose II
Spermatide
Corps résiduels
16 spermatozoïdes
27 jours
24 jours
23 jours
Durée totale : 74 jours

Figure 8.3 Le cycle spermatogénétique : durée et rendement.

Cellule de Sertoli et contrôle de la spermatogenèse

Les cellules de Sertoli constituent « l'armature » du tube séminifère. Elles sont en contact étroit avec les cellules germinales qui apparaissent « nichées » dans des espaces ménagés entre des cellules de Sertoli adjacentes (figure 8.4). Des dispositifs de jonctions étanches très particulières permettent de distinguer deux compartiments : un basal, qui contient les spermatogonies et les spermatocytes I préleptotènes (correspondant à la phase de multiplication), et un « ad-luminal », contenant toutes les autres cellules. Les jonctions serrées constituent l'élément essentiel de la barrière hématotesticulaire qui isole totalement ce second compartiment du milieu intérieur [4] ; ainsi, les étapes de méiose et de spermiogenèse sont entièrement sous le contrôle de la cellule de Sertoli. Toute effraction de cette barrière pourra être à l'origine d'une auto-immunisation visant la lignée germinale, avec pour conséquence une altération de la spermatogenèse pouvant être définitive.

La cellule de Sertoli est extrêmement complexe sur les plans structural et fonctionnel. En schématisant, on peut dire qu'elle assure :

- un rôle nourricier pour les cellules germinales, en particulier à partir de la méiose ;
- la régulation de la multiplication des spermatogonies [5] ;
- la migration des cellules germinales, dont l'évolution globale est centripète, avec une succession de phases d'ouverture et de fermeture des dispositifs de jonction intercellulaire ;
- la spermiation ;
- la sécrétion de molécules spécifiques, comme l'*androgen binding protein* qui assure le transport local des androgènes, et d'autres de type hormonal (inhibine, AMH…) ;
- la transformation des androgènes en œstrogènes (par une aromatase) ou en 5-α-DHT (par une 5-α-réductase).

La cellule de Sertoli constitue le principal acteur de régulation endocrine, paracrine et autocrine de la spermatogenèse. De nombreux articles et chapitres d'ouvrages traitent de la question [6, 7] aussi on se contentera d'un aperçu synthétique. La cellule de Sertoli est soumise à l'action de deux hormones :

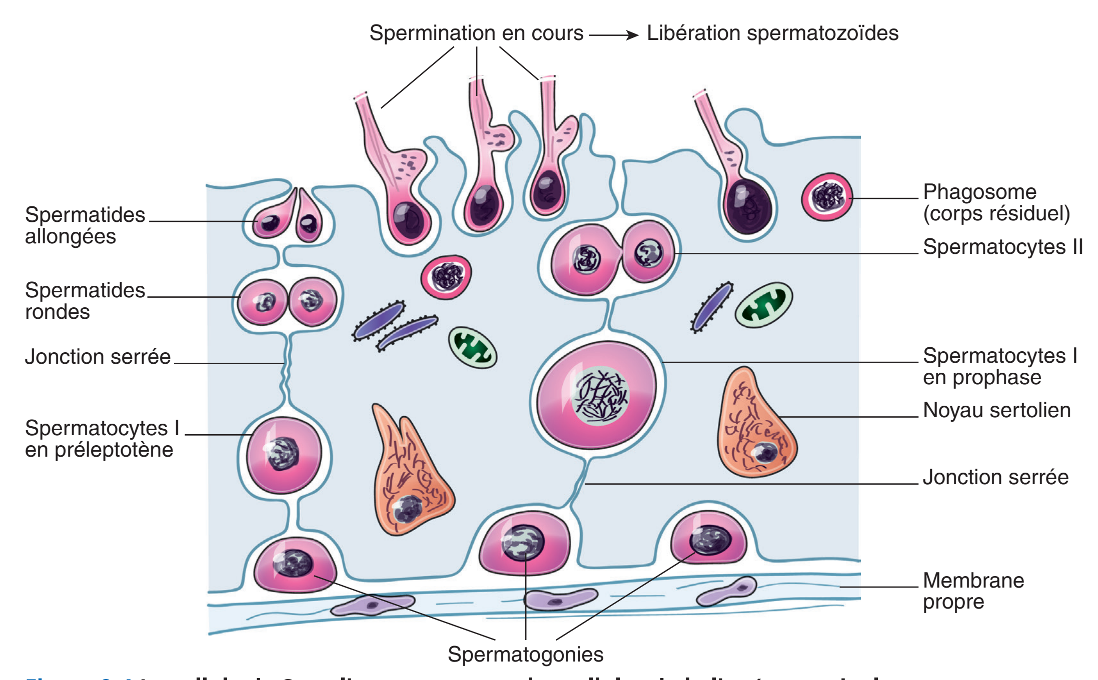


Figure 8.4 La cellule de Sertoli : rapports avec les cellules de la lignée germinale.

- la FSH, sécrétée par l'hypophyse, qui exerce son action via des récepteurs membranaires, déclenchant une élévation d'AMP cyclique, et l'activation de protéine kinases;
- la testostérone, synthétisée par les cellules de Leydig stimulées par la LH hypophysaire; ces cellules sont situées dans les espaces interstitiels, au contact des capillaires sanguins. La testostérone pénètre dans la cellule de Sertoli par voie paracrine (et non endocrine), et va se lier à des récepteurs nucléaires; une fois dans le noyau, elle va déclencher l'activation de nombreux gènes. On estime que la concentration intratubulaire de testostérone est au moins 100 fois supérieure à la concentration plasmatique : un apport exogène de testostérone n'aurait aucune conséquence sur cette concentration, en revanche elle déclencherait immanquablement un rétrocontrôle négatif sur le gonostat hypothalamo-hypophysaire, entraînant une chute de sécrétion des gonadotrophines, et au final une inhibition de la spermatogenèse.

Les rôles respectifs de la FSH et de la testostérone ne sont pas totalement clarifiés. En simplifiant, on peut dire que la FSH stimule la prolifération des spermatogonies avant la puberté, puis la phase de multiplication une fois la puberté installée. La testostérone est indispensable au bon déroulement des phases de méiose et de spermiogenèse. Des observations cliniques se rapportant à des situations d'hypogonadisme hypogonadotrope indiquent clairement que seule l'association des deux hormones permet d'instaurer ou de restaurer une spermatogenèse normale sur les plans quantitatifs et qualitatifs. Pour des raisons mentionnées plus haut, il faut donner une association FSH–hCG (ou hMG–hCG), et non FSH–testostérone.

Références

[1] Sharpe RM, Fraser HM, Brougham MF, et al. Role of the neonatal period of pituitary-testicular activity in germ cell proliferation and differentiation in the primate testis. Hum Reprod 2003; 18 : 2110–7.

[2] Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals : seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. Physiol Rev 1972; 52 : 198–235.

[3] Bujan L. Le spermatozoïde. In : Collège hospitalo-universitaire de biologie et médecine du développement et de la reproduction. Biologie de la reproduction et du développement. Coll. PACES. Paris: Ellipses; 2014. p. 39–50.

[4] Mruk DD, Cheng CY. The mammalian blood-testis barrier : its biology and regulation. Endocr Rev 2015; 36 : 564–91.

[5] Caires K, Broady J, McLean D. Maintaining the male germline : regulation of spermatogonial stem cells. J Endocrinol 2010; 205 : 133–45.

[6] de Kretser DM, Loveland KL, Meinhardt A, et al. Spermatogenesis. Hum Reprod 1998; 13(Suppl 1) : 1–8.

[7] Sofikitis N, Giotitsas N, Tsounapi P, et al. Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis. J Steroid Biochem Mol Biol 2008; 109 : 323–30.

Chapitre 9

Lecture du spermogramme, du spermocytogramme et techniques d'analyses du génome du spermatozoïde

N. Belhadrie-Mansouri, N. Celton, A. Devaux, H. Copin, P. Merviel, M. Benkhalifa

Analyse du sperme

C'est l'examen de première intention lors d'un bilan d'infertilité de couple. Le spermogramme permet d'évaluer les caractéristiques macroscopiques et microscopiques.

Recueil de sperme

Le recueil doit s'effectuer au laboratoire par masturbation après un délai d'abstinence de 2 à 7 jours. Dans cet intervalle, le volume, la numération et le nombre total de spermatozoïdes augmente de façon linéaire (0,4 mL, 13 millions/mL et 87 millions/j). Le pourcentage de formes mobiles baisse et la nécrospermie augmente mais dans une proportion moindre.

Examen macroscopique

Le sperme doit se liquéfier pendant 30 à 60 minutes sous la hotte ou dans une étuve à 37°.

On regarde alors :

- l'aspect : un sperme normal est opalescent ou opaque selon la concentration de spermatozoïdes;
- la viscosité : elle peut être normale, augmentée ou forte;
- le volume : il est essentiellement constitué des sécrétions des glandes séminales de la prostate et de l'épididyme. Pour un sperme normal, le volume se situe entre 1,5 et 6 mL :
  - une **hypospermie** définie un volume diminué dont la cause peut être un recueil incomplet, un trouble de l'éjaculation, une éjaculation rétrograde, une atteinte des canaux déférents ou des vésicules séminales,
  - une **hyperspermie** définie une augmentation de volume et doit faire rechercher une inflammation des glandes annexes,
  - une **aspermie** est une absence d'éjaculat;
- le pH : il doit être compris entre 7,2 et 8. Un pH augmenté évoque une atteinte de la prostate et un pH diminué évoque une atteinte des canaux déférents ou des vésicules séminales. Une modification du pH peut être aussi due à un recueil incomplet.

Examen microscopique

Les paramètres spermatiques normaux ont été déterminés par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 2010 [1]. La limite inférieure prise est celle aux cinquièmes centiles obtenus chez les hommes fertiles.

Concentration et numération

Le comptage est réalisé en cellules (Malassez ou Kova) après homogénéisation, dilution et immobilisation des spermatozoïdes (figure 9.1).

Numération des spermatozoïdes

C'est le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat. Une numération normale est supérieure à 39 millions/éjaculat.

Concentration des spermatozoïdes

C'est le nombre de spermatozoïdes par millilitre de sperme. Une concentration normale se situe entre 15 et 200 millions/mL.

L'**oligospermie** est une concentration inférieure à 15 millions/mL et une numération inférieure à 39 millions/éjaculat. Plus cette valeur diminue, plus les capacités fécondantes du sperme diminuent.

La **polyzoospermie** est une concentration supérieure à 200 millions/mL.

La **cryptozoospermie** est la présence de rares spermatozoïdes, retrouvés après centrifugation de l'éjaculat.

L'**azoospermie** est l'absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat avant et après centrifugation.

Concentration en cellules rondes

Les cellules rondes peuvent être des cellules de la lignée germinale, du tractus génital ou des leucocytes. Un test LeucoScreen® peut être utilisé pour différencier les leucocytes des cellules germinales.

Les cellules germinales ne doivent pas dépasser 10 % de la numération de spermatozoïdes. Sinon un trouble de la spermatogenèse est évoqué.

Le nombre de leucocytes ne doit pas dépasser 1 million/mL, sinon il faut rechercher une infection.

Mobilité

La mobilité est évaluée sur un échantillon de sperme entre lame et lamelle.

Trois types de spermatozoïdes sont examinés : mobiles progressifs (a + b), mobiles non progressifs (c) et immobiles (d).

Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles progressifs (a + b) doit être égal ou supérieur à 32 %.

Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles progressifs et non progressifs (a + b + c) doit être égal ou supérieur à 40 % (figure 9.2).

Asthénozoospermie : c'est la diminution de la mobilité des spermatozoïdes.

Akinétospermie : c'est une absence de spermatozoïdes mobiles. Elle doit faire rechercher une dyskinésie flagellaire en l'absence de nécrospermie.

Présence d'agglutination de spermatozoïdes : c'est l'attachement de spermatozoïdes mobiles entre eux. La présence d'agglutinats doit faire rechercher des anticorps antispermatozoïdes.

Vitalité

Détermination du pourcentage de spermatozoïdes vivants après coloration d'un échantillon par un colorant vital (éosine-nigrosine). Les spermatozoïdes morts sont colorés en rose (figure 9.3).

Une vitalité normale est égale ou supérieure à 58 %.

Une **nécrospermie** définit une vitalité abaissée et doit faire rechercher une infection.

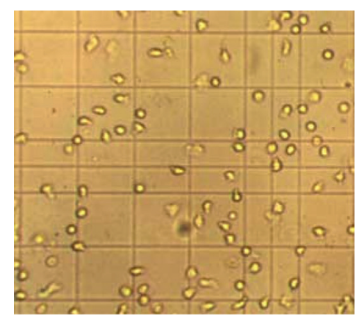


Figure 9.1 Cellule de comptage pour spermatozoïdes.

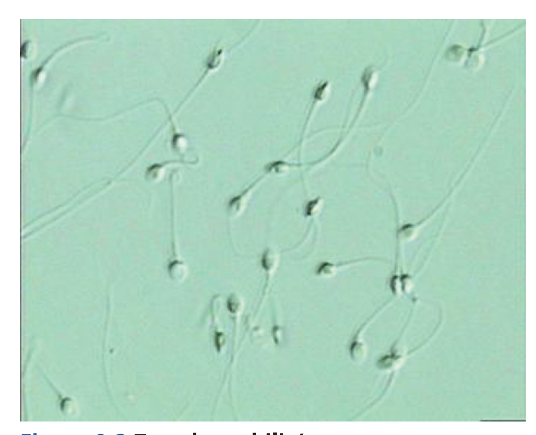


Figure 9.2 Test de mobilité.

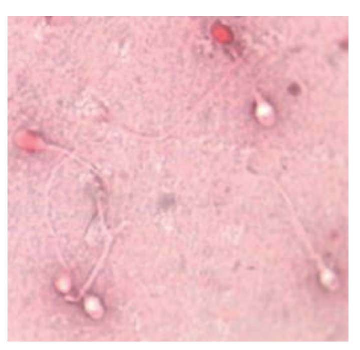


Figure 9.3 Spermatozoïdes vivants (non colorés) et morts (colorés en rose).

Spermocytogramme

C'est une analyse morphologique de la tête, de la pièce intermédiaire et du flagelle de 100 spermatozoïdes après fixation et coloration d'un frottis de sperme (coloration de Shorr et Harris, figure 9.4).

Il donne un pourcentage de forme typique, un profil des anomalies morphologiques observées et le calcul de l'index d'anomalie multiple (IAM). L'IAM correspond au nombre moyen d'anomalies par spermatozoïde anormal.

Le pourcentage de formes typiques doit être égal ou supérieur à 15 % et l'IAM inférieur à 1,6 selon la classification de David modifiée.

La tératospermie correspond à un pourcentage de formes typiques inférieur à 15 %.

Un IAM supérieur à 1,6 est de mauvais pronostic de fécondance.

La **tératospermie** est le plus fréquemment de profil polymorphe et sans spécificité. Des anomalies monomorphes telles que la globozoospermie, la macrocéphalie ou des flagelles courts doivent entraîner des explorations complémentaires avant la prise en charge en assistance médicale à la procréation (AMP).

Un pourcentage de forme typique seul, sans profil morphologique détaillé, peut être rendu lorsque la cytologie complète a déjà été réalisée précédemment sans déceler d'anomalie spécifique.

Biochimie séminale

Elle est de moins en moins utilisée grâce aux performances du bilan échographique urogénital dans les troubles excrétoires.



Figure 9.4 Spermatozoïdes colorés pour un spermocytogramme.

Le plasma séminal est constitué par les sécrétions des voies excrétrices.

Les marqueurs de la sécrétion épididymaire sont : carnitine et alpha 1-4 glucosidase.

Le marqueur de la sécrétion des vésicules séminales est : fructose.

Les marqueurs de la sécrétion prostatique sont : citrate, phosphatase acides, zinc.

Les indications sont : une hypospermie, une oligozoospermie, une cryptozoospermie, une azoospermie, une asthénozoospermie, une nécrozoospermie.

Les limites inférieures de référence sont :

- alpha 1-4 glucosidase : 20 m/éjaculat;
- fructose : 13 micromol/éjaculat;
- zinc : 2,4 micromol/éjaculat;
- citrate : 40 micromol/éjaculat.

Test de migration survie

C'est un examen de deuxième intention dans la prise en charge d'un couple pour infertilité. Le choix de la technique de l'AMP dépend de ses résultats. Habituellement :

- > 5 millions de spermatozoïdes/mL, pas d'indication de PMA;
- de 2 à 5 millions, indication d'une fécondation *in vitro* (FIV);
- < 2 millions, voire 1 million, indication d'*intracytoplasmic sperm injection* (ICSI) à retenir.

C'est un test de sélection et de préparation des spermatozoïdes. Il mime *in vitro* les étapes de

sélection et de capacitation des spermatozoïdes qui s'opère dans le tractus génital féminin.

La technique utilisée est la centrifugation sur gradient de densité. Elle sélectionne les spermatozoïdes selon leur densité nucléaire. La concentration, la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes sont déterminées avant et après gradient.

La survie des spermatozoïdes est évaluée après 24 heures d'incubation à température ambiante.

Pour la réalisation d'une insémination intra-utérine le nombre de spermatozoïdes mobiles progressifs doit être d'au moins 1 million par préparation avec une survie supérieure à 30 %.

Test immunologique

Recherche d'anticorps antispermatozoïdes (ACAS) : IgG et IgA.

Indications : présence d'agglutinats dans le sperme, asthénozoospermie, antécédents d'infection, de traumatisme ou de chirurgie des voies génitales.

MAR test *(mixed antiglobulin reaction test)* : il détermine le pourcentage de spermatozoïdes mobiles fixés aux billes et le lieu de fixation (tête, flagelle, mixte) avant et après séparation. **Le test est positif si 50 % des spermatozoïdes sont fixés** aux billes (valeur de consensus de l'OMS).

Spermoculture

Exigence réglementaire du bilan d'une infertilité : arrêté de juillet 2010 relatif aux bonnes pratiques [2]. À réaliser 6 mois maximum avant une insémination intra-utérine. Délai retenu par extension pour les tentatives de FIV.

Indications en dehors du bilan : leucospermie supérieure à 10^6/mL, nombreux spermatozoïdes avec un flagelle enroulé, asthénozoospermie.

Les analyses bactériologiques à réaliser sont :

- sur le sperme : recherche de germes banaux et de mycoplasmes urogénitaux ;
- sur les urines : recherche de *Chlamydiae trachomatis* sur le premier jet urinaire sinon au moins 2 heures après la dernière miction [3].

Interprétations des résultats :

- le seuil de positivité pour une espèce potentiellement pathogène (bacilles à Gram négatif) est de 5×10^3 ufc/mL ;
- les germes de la flore urétrale ou cutanée ne sont à prendre en compte que s'ils sont en culture monomicrobienne ou majoritaire (> 10^4) ;
- les cultures polymicrobiennes sont dues à des contaminations lors des recueils de sperme.

Une spermoculture positive doit être contrôlée pour mettre en place le traitement adapté. Il faut insister sur les conditions d'hygiène au moment du recueil. Conseiller de boire beaucoup d'eau avec des éjaculations rapprochées avant le contrôle.

Un prélèvement vaginal doit être effectué dans les cas d'infection à *Ureaplasma* ou *Gardnerella* pour traiter le couple si besoin.

Analyse des anomalies du génome du spermatozoïde

Le bilan de l'infertilité masculine peut être complété par une évaluation du noyau des spermatozoïdes par quatre tests supplémentaires : l'analyse de l'aneuploïdie et l'estimation du risque de non-disjonction chromosomique, la fragmentation de l'ADN spermatique, la décondensation de la chromatine et l'indice de méthylation.

Indications : bilan d'infertilité inexpliquée, échec de tentatives de FIV/ICSI (activation ovocytaire et blocage embryonnaire), échec d'implantation et avortement précoce.

Estimation de l'aneuploïdie et risque de non-disjonction

Technique : hybridation *in situ* multifluorescente.

Principe : sur un test de migration survie si possible et suite à un traitement de choc hypotonique et fixation des spermatozoïdes, un cocktail de sondes spécifiques est hybridé 12 à 14 h. Après lavage des lames pour éliminer les hybridations non spécifiques, une estimation de la disomie chromosomique est proposée après analyse d'un minimum de 1000 spermatozoïdes si possible (figure 9.5).

Fragmentation de l'ADN spermatique

Technique : TUNEL.

Principe : quantification de l'incorporation de nucléotides marqués aux extrémités 3′OH

des fragments d'ADN grâce à une terminal désoxynucléotidyl transférase.

L'analyse porte sur 200 spermatozoïdes. Un pourcentage de spermatozoïdes marqués est déterminé : un taux supérieur à 30 % est anormal mais il n'y a pas de consensus (figure 9.6).

Décondensation de la chromatine spermatique

Technique : bleu d'aniline.

Principe : la coloration en bleu des spermatozoïdes serait en rapport avec la persistance de nucléoprotéines riches en lysine responsables d'une condensation défectueuse de la chromatine. L'analyse porte sur 200 spermatozoïdes. Un pourcentage de spermatozoïdes colorés est déterminé : un taux supérieur à 30 % est anormal, mais il n'y a pas de consensus sur le seuil limite; cela invite le médecin à questionner sur la prise de toxiques possible (tabac par exemple) (figures 9.7 et 9.8).

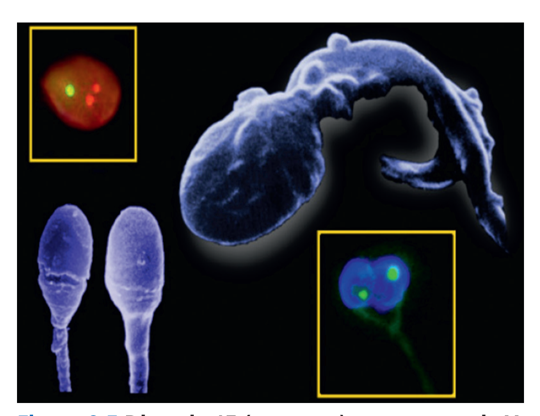


Figure 9.5 Disomie 15 (en rouge) et monosomie Y (en jaune); disomie X sur spermatozoïde bicéphale.

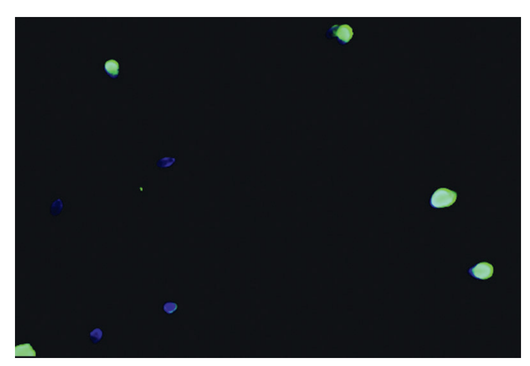


Figure 9.6 Spermatozoïde fragmenté en vert, normal en bleu.

Indice de méthylation

Technique : méthode sandwich avec anticorps anti-méthyle cytosine en double couche (figure 9.9).

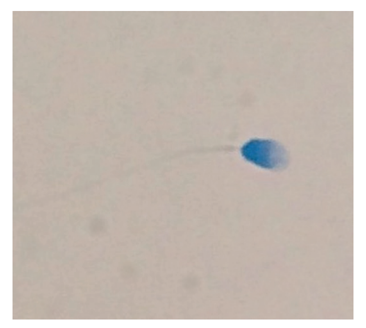


Figure 9.7 Spermatozoïde dénaturé.



Figure 9.8 Spermatozoïdes normaux.

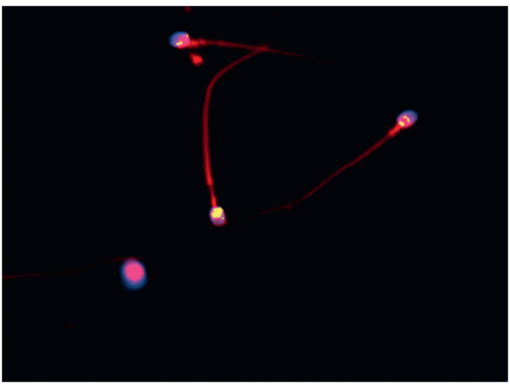


Figure 9.9 Méthylation totale et partielle (coloration en jaune de la tête du spermatozoïde).

Principe : l'état de méthylation de la chromatine est l'un des régulateurs clés de la spermatogenèse. Son altération pourrait ainsi contribuer à des défauts d'expression des gènes au cours de la méiose et/ou de la maturation de spermatide et ainsi conduire à des paramètres spermatiques anormaux (faible numération, problème de mobilité, morphologie et vitalité).

Conclusion

Toute anomalie du spermogramme doit être contrôlée.

Une spermatogenèse nécessite un délai de 74 jours auxquels s'ajoutent 12 jours environ de transit épidydimaire, d'où le délai de 3 mois à respecter entre la réalisation de deux spermogrammes consécutifs. Il est possible qu'une hygiène de vie et des traitements de supplémentation vitaminique ou antioxydants améliorent les paramètres de l'intégrité du génome du spermatozoïde.

Références

[1] WHO. Laboratory manuel for the examination and processing of human semen. 5th ed : WHO ; 2010.
[2] Arrêté du 3 août 2010 modifiant l'arrêté du 11 avril 2008 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation.
[3] Exploration de la fonction de reproduction. Versant masculin. Cahier de Formation de Biologie Médicale ; 2009. no 42.

Bilan complémentaire du patient présentant une azoospermie ou une oligoasthénozoospermie

Chapitre 10

C. Methorst

Une fois le diagnostic d'azoospermie posé, le bilan du patient permet une prise en charge personnalisée en particulier dans le cadre de pathologies génétiques susceptibles d'avoir un impact sur la descendance.

La première question à se poser porte sur le type d'azoospermie : obstructive, non obstructive (sécrétoire) ou mixte. Ensuite, le bilan est aiguillé en fonction du diagnostic causal posé. Ainsi, en fonction du type d'azoospermie, la probabilité de retrouver des spermatozoïdes lors de l'extraction chirurgicale est différente. La question d'un algorithme de probabilité de retrouver des spermatozoïdes se pose alors : y a-t-il des facteurs prédictifs de retrouver des spermatozoïdes à la biopsie ?

Examen clinique et interrogatoire de l'homme

Trop souvent, le spermogramme est demandé lors de la consultation de la patiente en gynécologie et le partenaire n'est alors ni examiné ni interrogé.

L'interrogatoire se doit d'être systématique et doit rechercher :

- la fertilité antérieure : notion spermiologique d'oligo-asthéno-tératospermie (OATS) antérieure ;
- la durée de l'infertilité ;
- les antécédents familiaux et reproductifs familiaux ;
- les pathologies du développement pubertaire ;
- l'existence de pathologies respiratoires ;
- la présence d'un diabète ;
- les troubles du bas appareil urinaire ;
- une dysfonction érectile ;
- une anéjaculation pouvant être liée à une anorgasmie ;
- des antécédents de chirurgie pelvienne : curage lombo-aortique des cancers testiculaires, mais aussi traitement prostatique puisque l'âge de la paternité recule ;
- un antécédent de chirurgie inguinale dans l'enfance qui est le plus souvent un antécédent d'orchidopexie avec abaissement gonadique ;
- une cryptorchidie pouvant être bilatérale et l'âge de la prise en charge (carnet de santé) ;
- des antécédents infectieux : orchite, prostatite, urétrite qui peuvent entraîner des atrophies testiculaires mais aussi des sténoses du tractus séminal ;
- l'exposition à la chaleur ;
- l'exposition à des toxiques : tabac qui réduit les taux de réussite des techniques de procréation médicalement assistée de moitié ; cannabis, métaux lourds ;
- l'exposition passée à des rayonnements ionisants ;
- les traitements de chimiothérapie et de radiothérapie ;
- l'utilisation de stéroïdes anabolisants ;
- l'utilisation de 5-α-réductase, de topiques du cuir chevelu contre la calvitie ;
- l'utilisation d'antihistaminiques et de certains antidépresseurs type sérotoninergiques qui modifient l'axe pituitaire.

L'examen physique se doit lui aussi d'être complet et tout homme infertile doit faire l'objet d'une expertise urologique ou andrologique.

Une attention particulière doit être portée à l'examen des organes génitaux :

- morphotype homme debout ;
- évaluation des caractères sexuels secondaires : distribution de la pilosité, des graisses, recherche d'une gynécomastie ;

- examen du pénis : hypospade? phimosis? micropénis?
- examen des testicules : palpation, consistance, taille (orchidomètre), recherche d'un nodule;
- en cas d'oligoasthénotératozoospermie, l'examen clinique doit s'évertuer à vérifier qu'il n'existe pas d'azoospermie du côté du testicule qui semble le meilleur;
- présence, positionnement et consistance des déférents et des épididymes;
- recherche d'une varicocèle;
- selon l'âge et la pathologie, le toucher rectal, remplacé volontiers par l'échographie des organes génitaux profonds.

Évaluation hormonale plasmatique

L'évaluation hormonale [1] est l'une des pierres angulaires du diagnostic causal de l'infertilité de l'homme, car elle va révéler aussi bien la défaillance testiculaire primitive que les pathologies de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

L'évaluation minimale comporte le dosage de la testostérone totale (prélevée le matin) de la LH *(luteinizing hormone)* et de la FSH *(follicle-stimulating hormone)*.

En cas d'anomalie du taux de testostérone [2], il faut lui associer sur un second dosage un dosage de la SHBG *(sex hormon binding globulin)* qui permettra de calculer les taux de testostérones libre et biodisponible qui seront modifiées en particulier chez l'homme obèse.

Dans le cadre de suspicion d'hypogonadisme hypogonadotrope, le dosage de la prolactine est conseillé ainsi que la réalisation d'une IRM de la selle turcique et des tests de stimulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire sont effectués.

Dans le cadre de l'hypogonadisme par défaillance testiculaire, le taux de FSH est le plus souvent élevé et plus ce taux est élevé, plus la défaillance est grande.

Le dosage de l'inhibine B, marqueur spécifique de la cellule de Sertoli est lui aussi réalisé et semble plus sensible que le dosage de la FSH.

Cependant ces dosages peuvent être normaux chez les patients présentant une azoospermie non obstructive (ANO) en particulier en cas de blocage précoce de la spermatogenèse.

Dans le cadre des azoospermies obstructives (AO), les dosages hormonaux seront normaux.

Ainsi la biochimie des paramètres du sperme trouvera ici toute son utilité pour aider à différencier les pathologies obstructive et sécrétoire.

L'étude biochimique des paramètres du sperme explore les fonctions épididymaire, prostatique et vésiculaire et reste intéressante malgré l'apport de l'échographie endorectale.

Ces marqueurs (L-carnithine pour l'épididyme, fructose pour les vésicules séminales, citrate et zinc pour la prostate) peuvent être absents ou très nettement diminués signant l'absence ou l'obstruction d'une glande ou bien, le plus souvent, on retrouve une diminution relative d'un ou plusieurs marqueurs signant la souffrance d'une glande.

En cas d'asymétrie de volume testiculaire, il faut penser que la FSH est le reflet de la fonction exocrine du meilleur des deux testicules.

Échographie

L'échographie scrotale doit être systématique chez l'homme infertile, d'autant plus qu'il s'agit d'une population où l'incidence du cancer testiculaire est augmentée.

Au mieux, l'échographie est réalisée par un praticien de l'imagerie rompu à l'exploration des troubles masculins de la fertilité.

Échographie scrotale

Elle va d'abord permettre la mesure objective du volume testiculaire (normale > 15 mL) et la comparaison des volumes droit et gauche, puis la vérification de la présence des conduits déférents.

L'échographie scrotale permet de trouver une pathologie chez 50 % des patients :

- 18 % de varicocèle;
- 14 % de lésion de l'épididyme;
- 5 % de spermatocèle;
- et la détection de petites tumeurs malignes non palpables (chez 0,5 % des patients) et de tumeurs bénignes (1 %) [3].

Enfin, les microcalcifications sont décrites chez 4 % des patients infertiles.

Échographie des organes génitaux profonds

Elle est demandée en cas d'hypospermie suspectant une pathologie obstructive à la recherche d'une absence des vésicules séminales, d'un kyste de l'utricule.

Elle est aussi utile lorsque l'on suspecte une pathologie du bas appareil urinaire associée telle que la prostatite chronique pour laquelle la description d'images inflammatoires et de calcifications aidera au traitement de cette pathologie quelquefois silencieuse.

L'apport de l'échographie dans le diagnostic d'une AO est indéniable. Cependant cet examen est vécu comme invasif par le patient souvent jeune et doit lui être expliqué suffisamment pour être acceptable avant.

Analyse sémiologique de l'ADN du spermatozoïde éjaculé

Ces techniques s'intéressent à la structure primaire et secondaire de l'ADN. Plusieurs publications ont porté sur le lien qui peut exister entre la structure de la chromatine et le taux de fécondation. Les résultats de ces études sont pour l'instant controversés du fait de l'inhomogénéité des techniques utilisées (TUNEL, Comet, SCSA).

Cependant l'ensemble des données plus avancées qui associent la fragmentation au ratio protamine 1 et 2 semble être un excellent marqueur des capacités de fécondance du spermatozoïde [4].

La décondensation de la chromatine est une atteinte de la structure tertiaire du spermatozoïde. Là aussi, l'intérêt de la technique est débattu mais il semblerait que l'atteinte du taux de décondensation soit un marqueur prédictif de l'échec de fécondation en *in vitro* [5].

Études génétiques

Les investigations génétiques s'entendent dès que le patient présente une oligozoospermie inférieure à 1 million de spermatozoïdes/mL. Elles doivent être orientées en fonction du type d'azoospermie.

La fréquence des anomalies génétiques chez les patients présentant une infertilité varie de 4,3 % chez les patients OATS à 20,6 % chez les patients azoospermiques [6].

Les anomalies chromosomiques dans cette population sont beaucoup plus fréquentes que dans la population générale.

Anomalies du caryotype

Elles sont présentes chez 7 % des hommes infertiles et la fréquence des anomalies est inversement proportionnelle au nombre de spermatozoïdes : 10 à 15 % en cas d'azoospermie et 5 % en cas d'oligozoospermie (1 % en cas de normozoospermie).

Le caryotype de la partenaire doit être prescrit en cas d'anomalie masculine en préalable à la consultation génétique.

Syndrome de Klinefelter

Les anomalies de nombre des chromosomes sexuels représentent les deux tiers des anomalies retrouvées chez l'homme infertile (aneuploïdies gonosomiques) [7]. Le syndrome de Klinefelter (SK) est la plus fréquente anomalie numérique chromosomique avec une fréquence d'environ un homme sur 600. Le chromosome X supplémentaire dérive de l'un des deux parents par non-disjonction méiotique.

Chez les patients porteurs d'une ANO, 14 % d'entre eux ont un SK avec des caractéristiques cliniques qui peuvent être variables : grande taille, réparation des graisses gynoïdes, petits testicules et profil hormonal plasmatique montrant une testostérone basse et une FSH élevée.

L'azoospermie est présente dans 98 % des cas, mais l'extraction chirurgicale de spermatozoïdes sera positive dans 50 % des cas d'autant plus que celle-ci a lieu tôt dans l'âge chronologique du patient puisqu'il existe une nette détérioration de la qualité de la spermatogenèse chez les SK plus âgés (les biopsies positives décroissent très vite en fonction de l'âge du patient).

Fructueuse quand elle est proposée tôt chez un très jeune adulte, elle se heurte au choc psychogène

d'annoncer à un patient à l'instant sans recherche de paternité un diagnostic d'hypofertilité.

Ainsi certaines équipes proposent une biopsie testiculaire de préservation juste après la puberté pour augmenter les probabilités de conserver une fertilité future.

Recherche de microdélétions du bras long du chromosome Y

Les microdélétions du bras long du chromosome Y sont spécifiques des troubles de la spermatogenèse et sont retrouvées chez 10 % des hommes avec une azoospermie ou une oligozoospermie [8]. Il existe trois zones situées sur le bras long du chromosome Y : la région proximale AZFa (fréquence : 0,5 à 4 %), la région centrale AZFb (fréquence 1 à 5 %) et la région distale AZFc (fréquence 80 %).

Les mutations AZF peuvent être complètes ou non et associées ou non.

La délétion AZFa est beaucoup plus délétère en termes de spermatogenèse que les autres et cette mutation complète est considérée comme associée à un syndrome des cellules de Sertoli seules, dispense de la biopsie [9]. Au contraire, les microdélétions AZFb et c peuvent être associées à des probabilités plus ou moins importantes de retrouver des spermatozoïdes à la ponction. La délétion AZFc est compatible avec le fait de retrouver des spermatozoïdes dans l'éjaculat [10].

Les garçons nés de pères porteurs de cette délétion sont à haut risque de présenter une infertilité. Cependant, il n'existe pas d'autre expression pathologique liée à cette mutation.

Recherche des mutations du gène *ABCC7* (ex-*CFTR*)

La résultante d'une anomalie de développement des canaux de Wolff est une absence (unilatérale ou) bilatérale des conduits déférents plus ou moins associée à des anomalies des épididymes et des vésicules séminales.

Le tableau associe une AO avec un volume séminal faible, un pH diminué, des marqueurs épididymaires et vésiculaires diminués (un taux de glucosidase faible), un volume testiculaire normal et un profil plasmatique normal.

L'absence bilatérale des conduits déférents (ABCD) est ici une forme larvée de mucoviscidose qui est causée par une mutation du gène *CFTR* (chromosome 7) à pénétrance incomplète et autosomique récessive. La mutation peut résulter soit d'une double mutation (hétérozygote composite) soit d'une mutation associée à un variant d'épissage.

L'ABCD doit amener chez l'homme à une étude du gène *CFTR* mais aussi chez sa partenaire car la fréquence de la mutation en portage hétérozygote est de 4 à 5 % de la population générale [11].

L'absence de détection d'une anomalie du gène n'élimine pas complètement le risque de mutation car seules les plus fréquentes sont recherchées.

La probabilité de spermatozoïdes à la ponction est élevée.

Tests en cas d'hypogonadisme hypogonadotrope

Les formes congénitales d'hypogonadisme hypogonatrope sont généralement détectées tôt car elles s'associent à un retard de développement pubertaire.

Les taux de FSH, LH et de testostérone sont bas, les testicules sont de petites tailles.

Associé à une anosmie, le syndrome de Kallman-DeMorsier est évoqué et une mutation des gènes *KAL1* et *KAL2* va être recherchée. Cependant, il existe d'autres anomalies génétiques qui peuvent entraîner ce trouble.

Tests à venir

Le polymorphisme du gène *FSHB* a été mis en évidence comme associé à une diminution de la FSH, une diminution du volume des testicules et une oligospermie [12].

Cette voie de recherche est d'autant plus intéressante que la substitution en FSH permet une amélioration du nombre de spermatozoïdes.

Tests prédictifs de spermatozoïdes à la biopsie

Le volume testiculaire, les taux de FSH et d'inhibine B ont été utilisés pour développer un score de

probabilité de retrouver des spermatozoïdes lors de l'extraction chirurgicale :

Score = (915 × FSH)/(volume testiculaire total × inhibine B)

Ce score utilisé chez des patients ayant une ANO se corrèle relativement bien à la probabilité de retrouver des spermatozoïdes à la biopsie. L'intérêt d'un tel calcul est de donner une probabilité au patient de retrouver des spermatozoïdes à la biopsie mais aussi d'adapter la technique chirurgicale en proposant plus facilement des micro-TESE si les probabilités sont faibles.

Outre ces scores, c'est principalement l'origine de l'ANO qui va prédire la probabilité de retrouver des spermatozoïdes lors de l'extraction (tableau 10.1) [13].

Le bilan de l'homme azoospermique doit donc être complet (figure 10.1) et passe par une consultation andrologique pour mettre en évidence les causes de l'azoospermie ou de l'OATS mais aussi les moyens qui pourraient être mis en œuvre pour améliorer l'extraction chirurgicale lors de la biopsie.

Tableau 10.1 Probabilité de spermatozoïdes présents.

Facteurs pronostiques	Probabilité
Arrêt partiel de la spermatogenèse (AZFc del)	75 %
Cryptorchidie	74 %
Hypogonadisme hypogonadotrope	73 %
Klinefelter	57 %
Tumeur testiculaire	45 %
Après traitement gonadotoxique	45 %
Petits testis, FSH élevée	29 %
Arrêt spermatogenèse (AZFa et b del)	0 %

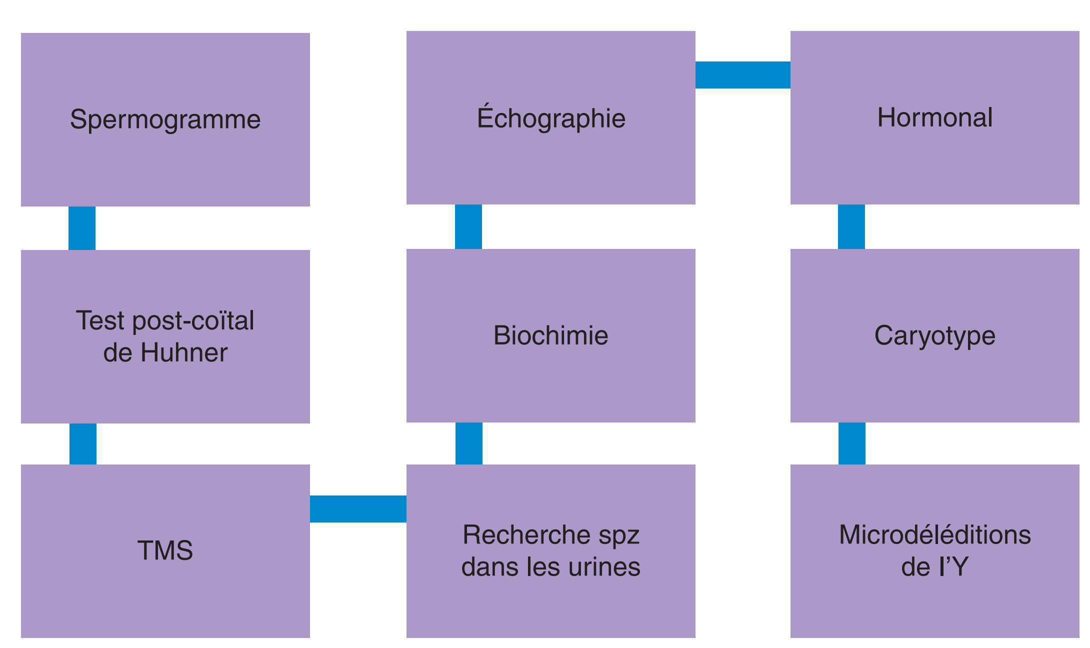


Figure 10.1 Bilan de l'homme azoospermique.
TMS : test de migration survie ; spz : spermatozoïde.

Références

[1] Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, et al. European Association Urology Guidelines on male infertility : the 2012 update. Eur Urol 2012 ; 62 : 324–32.
[2] Zitzmann M, Behre HM, Kliesch S. Gonadotrophin treatment in male infertility. J Reprod Med Endocrinol 2013 ; 10 : 23–8.
[3] Ammar T, Sidhu PS, Wilkins CJ. Male Infertility : the role of imaging in diagnosis and management. Brit J Radiodol 2012 ; 85 : 559–68.
[4] Simon L, Liu L, Murphy K, et al. Comparative analysis of three sperm DNA damage assays and sperm nuclear protein content in couples undergoing assisted reproduction treatment. Hum Reprod 2014 ; 29 : 904–17.
[5] Hammadeh ME, Stieber M, Hadl G, Schmidt W. Association between sperm cell chromatin condensation, morphology based on strict criteria, and fertilization, cleavage and pregnancy rates in a IVF program. Androlgia 1998 ; 30 : 29–35.
[6] Tüttelmann F, Gromoll J, Kliesch S. Genetics in male infertility. Urologe 2008 ; 47 : 1561–7.
[7] Tüttelmann F, Gromoll J. Novel genetic aspects of Klinefelter's syndrome. Mol Hum Reprod 2010 ; 16 : 386–95.
[8] Simoni M, Tüttelmann F, Gromoll J, Nieschlag E. Clinical consequences of microdeletions of the Y chromosome : the extended Münster experience. Reprod Biomed Online 2008 ; 16 : 289–303.
[9] Krausz C, Hoefsloot L, Simoni S, Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions : state-of-the-art 2013. Andrology 2014 ; 2 : 5–19.
[10] Soares AR, Costa P, Silva J, et al. AZFb microdeletions and oligozoospermia – which mechanisms ? Fertil Steril 2012 ; 97 : 858–63.
[11] de Braaekeleer M, Ferec C. Mutations in the cystic fibrosis gene in men with congenital bilateral absence of vas deferens. Mol Hum Reprod 1996 ; 2 : 669–77.
[12] Tüttelmann F, Laan M, Grigorova M, et al. Combined effects of the variants FSHB -211G>T and FSHR 2039A>G on male reproductive parameters. J Clin Endocrinol Metab 2012 ; 97 : 3639–47.
[13] Pantke P, Diemer T, Marconi M, et al. Testicular sperm retrieval in azoospermic men. Eur Urol 2008 ; 7(suppl) : 703.

Infertilité par insuffisance gonadotrope

Chapitre 11

C. Grysole, D. Dewailly

Les causes d'insuffisance hypogonadotrope sont nombreuses et variées. Elles sont le plus souvent isolées mais parfois associées à d'autres déficits hypophysaires. Après avoir éliminé aisément une hyperprolactinémie, et avant d'évoquer un hypogonadisme hypogonadotrope congénital, il est essentiel de connaître les autres étiologies qui peuvent être fonctionnelles ou organiques.

Caractéristiques générales des insuffisances gonadotropes

Clinique

Chez la femme, le tableau clinique est dominé par une anomalie du cycle, avec le plus souvent une aménorrhée secondaire (ou primaire si le déficit est présent dès la puberté). L'absence d'ovulation est responsable de l'infertilité (classe I de l'OMS). Par ailleurs, l'hypoestrogénie peut être responsable d'un grand nombre de symptômes : diminution de la pilosité, involution mammaire, baisse de la libido, ainsi qu'un risque ostéoporotique. À l'inverse de l'hypogonadisme périphérique, il n'existe pas de bouffées vasomotrices.

Chez l'homme, le principal motif de consultation est l'infertilité, avec diminution du volume testiculaire et oligo-azoospermie. Par ailleurs, la carence en testostérone peut entraîner une diminution de la musculature, de la pilosité et de la libido, ainsi qu'une gynécomastie et une ostéoporose.

Paraclinique

Chez la femme, un taux d'œstradiol bas associé à des taux bas ou normaux de gonadotrophines oriente le diagnostic vers une insuffisance hypogonadotrope. Chez l'homme, on retrouve une baisse concomitante des gonadotrophines hypophysaires et de la testostérone totale.

Bien que largement utilisé, l'intérêt diagnostique du test à la GnRH *(gonadotropin-releasing hormone)* a été remis en cause en raison de sa faible rentabilité. Il est primordial d'évaluer l'ensemble des fonctions hypophysaires afin d'écarter une insuffisance anté-hypohysaire globale. Un bilan minimum s'impose, comprenant les dosages de la TSH couplée à la T4 libre, de l'IGF-1 et de l'ACTH et du cortisol à 8 h [1].

L'IRM hypothalamo-hypophysaire est indispensable pour rechercher une tumeur de la région hypothalamo-hypophysaire. L'ostéodensitométrie osseuse est utile pour rechercher une ostéopénie ou ostéoporose [1].

Étiologies

Hypogonadisme hypogonadotrope congénital (HHC)

Diagnostic

Chez la plupart des patients présentant un HHC et consultant pour infertilité, le diagnostic aura déjà été fait. En effet, cette pathologie se révèle le plus souvent par un retard pubertaire. Parfois, chez le garçon, il peut être suspecté lors de la période néonatale devant un micropénis ou une cryptorchidie uni- ou bilatérale [2, 3].

Cependant, certaines formes partielles peuvent se diagnostiquer au moment du bilan d'infertilité. Il est alors parfois difficile, chez la femme, de les différencier d'une aménorrhée hypothalamique fonctionnelle si l'olfaction est normale et s'il n'y a

pas de mutation identifiée. Des formes réversibles ont été détectées, principalement chez les patients masculins atteints du syndrome de Kallmann. Lorsque ces formes réversibles surviennent avant 20 ans chez un sujet avec olfaction normale et sans mutation identifiée, il est difficile de les distinguer du retard pubertaire simple [4].

L'examen clinique doit rechercher d'autres signes présents dans le syndrome de Kallmann. En effet, en dehors de l'anosmie/hyposmie, on peut retrouver chez ces patients des anomalies craniofaciales (fente labiopalatine), une surdité neurosensorielle, des troubles neurologiques (ataxie cérébelleuse), des anomalies numériques (clinodactylie) ou encore une agénésie rénale unilatérale [1].

L'IRM cérébrale avec coupes spécifiques du tractus olfactif est intéressante dans le diagnostic du syndrome de Kallmann, à la recherche d'une hypoplasie/agénésie uni- ou bilatérale des bulbes olfactifs.

L'étude génétique est souvent la dernière étape dans l'enquête de l'HHC. Elle est orientée selon la présence ou non d'une anosmie et les autres signes cliniques associés [5].

Cependant, l'exploration génétique est souvent négative : des mutations ont été retrouvées dans seulement 30 % des syndromes de Kallmann, expliquant en partie le sous-diagnostic de cette pathologie.

Traitement

Les objectifs de la thérapie pour les adolescents ou les jeunes adultes atteints d'HHC sont l'induction et le maintien de la puberté normale et l'induction de la fertilité quand le patient le désire.

Chez la femme, deux possibilités existent pour induire l'ovulation :

- l'administration pulsatile de GnRH par un système de pompe portable. Cependant, cette option thérapeutique ne peut être envisagée en cas de mutation très invalidante du gène du récepteur de la GnRH ;
- l'administration de gonadotrophines : l'association de FSH *(follicle-stimulating hormone)* et de LH *(luteinizing hormone)* permet une croissance folliculaire, puis l'ovulation est déclenchée par de l'hCG *(human chorionic gonadotropin)* ou de la LH recombinante.

Il n'y a pas de consensus concernant l'approche optimale pour le traitement de la fertilité chez les hommes. La thérapie par les gonadotrophines (associant FSH et hCG) est nécessaire pour induire la spermatogenèse [6]. Certains facteurs sont péjoratifs : un volume testiculaire initial inférieur à 4 mL, un taux sérique d'inhibine B inférieur à 60 pg/mL et l'antécédent de cryptorchidie [7].

Se pose le problème du moment optimal pour débuter le traitement par gonadotrophines.

Le traitement dès l'adolescence par hCG seul ou combiné avec la FSH pour l'induction de la puberté peut entraîner une croissance des testicules et l'amélioration de la fertilité par rapport au traitement par testostérone, cependant il existe peu d'études validant cette attitude.

Hyperprolactinémie

L'hyperprolactinémie est la cause la plus fréquente d'insuffisance gonadotrope acquise. Le déficit gonadotrope partiel résulte de l'altération de la sécrétion de GnRH [8]. L'excès de prolactine agirait sur les neurones du noyau arqué pour inhiber l'expression des kisspeptines et ainsi ralentir la pulsatilité de la GnRH [9, 10]. La liste complète des étiologies des hyperprolactinémies ne sera pas développée ici mais peut être trouvée dans une revue [11].

Diagnostic

Clinique

Chez la femme, l'association aménorrhée–galactorrhée est très évocatrice d'hyperprolactinémie. Les troubles du cycle peuvent être variables. Le test au progestatif sera souvent négatif [12].

Chez l'homme, le tableau est souvent peu symptomatique expliquant la découverte tardive. Il associe des troubles de la libido à une galactorrhée.

Un temps important de l'examen clinique sera de rechercher des signes évoquant un syndrome tumoral hypophysaire, tels que des céphalées, une réduction du champ visuel, une diplopie. Il faudra également rechercher des signes d'insuffisance antéhypophysaire (thyréotrope, corticotrope ou somatotrope) ou une hypothyroïdie

périphérique ainsi qu'un syndrome polyuropolydipsique évocateur d'un diabète insipide. Enfin, on interrogera le patient sur ses antécédents à la recherche d'une insuffisance rénale ou hépatique, sur ses prises médicamenteuses.

Paraclinique

Une seule mesure de la prolactine sérique est nécessaire pour établir le diagnostic d'hyperprolactinémie, réalisée par ponction veineuse, au repos. Un taux supérieur à 25 ng/mL suffit à poser le diagnostic. Un taux de prolactine supérieur à 500 ng/mL affirme le diagnostic de macroprolactinome [13].

Chez les patients présentant une hyperprolactinémie asymptomatique, il convient de prescrire une chromatographie de la prolactine, afin de rechercher un excès de formes macromoléculaires de prolactine, appelées big-prolactine ou big-big-prolactine.

Après avoir éliminé une grossesse, une hyperprolactinémie iatrogène, une insuffisance rénale ou hépatique et une hypothyroïde périphérique, il conviendra de réaliser une IRM hypothalamo-hypophysaire [14]. Les prolactinomes se présentent sous la forme d'un hyposignal T1 et d'un hypersignal T2, et sont rehaussés après gadolinium. L'IRM permet de distinguer les micro-adénomes (< 10 mm) des macro-adénomes (≥ 10 mm). Pour ces derniers, il faut rechercher une extension suprasellaire comprimant le chiasma optique et/ou une extension vers les sinus caverneux. L'IRM hypophysaire permet en outre de diagnostiquer les autres causes tumorales telles que les tumeurs de la région supra-hypophysaire (méningiomes, craniopharyngiomes, germinomes) ou les atteintes de la tige pituitaire (sarcoïdose, macroadénomes non lactotropes compressifs).

Traitements

Le but du traitement est de normaliser la prolactine, afin de réduire la taille de la tumeur (pour les prolactinomes), de restaurer des cycles réguliers et donc d'améliorer la fertilité.

Les agonistes dopaminergiques sont les médicaments de première ligne [15]. Ils sont extrêmement efficaces dans la suppression de la sécrétion de la prolactine, indépendamment de la cause. Chirurgie et radiothérapie sont réservées aux cas exceptionnels de résistance et/ou une intolérance au traitement médical.

La cabergoline (Dostinex®) est le traitement de première intention. Il peut être poursuivi jusqu'à la confirmation d'une grossesse. Si le traitement médical doit être maintenu pendant la grossesse, on préférera utiliser la bromocriptine (Parlodel®) du fait de données de pharmacovigilance encore insuffisantes avec la cabergoline.

Aménorrhée hypothalamique fonctionnelle (AHF)

L'AHF est une forme réversible de déficit en GnRH, due à une balance énergétique négative, pouvant résulter d'une restriction alimentaire ou d'une activité physique excessive. Elle représente 15 % des aménorrhées secondaires et est la deuxième cause la plus fréquente d'insuffisance gonadotrope, après l'hyperprolactinémie. Elle est caractérisée par la suppression ou le ralentissement de la pulsatilité de la GnRH, entraînant une diminution de la sécrétion des gonadotrophines hypophysaires, ayant pour conséquence l'anovulation.

Diagnostic

Clinique

L'AHF est un diagnostic d'élimination. Habituellement, l'aménorrhée est présente depuis plus de 6 mois, peut être primaire (chez les adolescentes) ou secondaire et résiste au test au progestatif. Trois principales causes d'AHF sont reconnues : associée à un stress, à un amaigrissement, à une pratique sportive intensive. Dans la majorité des cas, tous ces facteurs sont présents, mais ces distinctions expliquent que des femmes de poids normal peuvent être touchées. L'anamnèse doit rechercher une perte de poids, des troubles de l'alimentation, une pratique physique intensive, un stress psychosocial [16].

On observe fréquemment des signes d'hypoestrogénie (sécheresse vaginale, troubles de la libido), d'hypométabolisme (érythrocyanose des extrémités, frilosité, lanugo, bradycardie, hypotension artérielle), de vomissements chroniques (perte de l'émail dentaire, abrasions gingivales, hypertrophie de la parotide).

L'examen clinique doit s'attarder à rechercher des signes d'autres causes d'aménorrhée, en particulier une hyperprolactinémie ou une cause centrale organique. Enfin, il n'y a pas d'hyperandrogénie dans l'AHF [16].

Paraclinique

Le bilan hormonal retrouve typiquement un taux d'œstradiol effondré, une LH basse et une FSH normale ou basse, avec une réponse préservée des gonadotrophines au test à la GnRH. En raison de l'hypo-insulinémie, la SHBG *(sex hormone binding globulin)* est augmentée et la T3 libre est abaissée du fait de l'hypométabolisme.

L'échographie pelvienne montre un petit utérus avec une atrophie endométriale, ainsi que des ovaires de taille réduite mais le comptage folliculaire est normal. On observe même dans 30 % des cas environ un excès folliculaire et donc une morphologie d'ovaires polykystiques sans qu'il y ait de réel SOPK. Cela peut conduire, à tort, à un diagnostic de SOPK et donc sous-diagnostiquer l'AHF. Dans cette situation, l'analyse clinique et le dosage de la LH plasmatique peuvent aider.

Il faut toujours garder à l'esprit que l'AHF est un diagnostic d'exclusion. Le bilan paraclinique vise donc à écarter toute cause organique d'anovulation. L'IRM cérébrale doit être réalisée de manière systématique dans l'AHF, afin d'éliminer une tumeur hypophysaire ou suprahypophysaire. Des céphalées persistantes ou intenses, des vomissements non provoqués ou des troubles de la vision sont, en effet, des symptômes trop tardifs.

Traitements

Le premier défi pour ces patientes sera de modifier leurs habitudes alimentaires, en suivant des règles hygiéno-diététiques visant à réintroduire les lipides et à réduire l'activité physique. Un contrat de poids peut être mis en place entre la patiente et le praticien. Cette prise en charge diététique conduira, le plus souvent, à la récupération de cycles. Une prise en charge psychologique pourra également les aider, notamment pour faire face à leurs phobies alimentaires et leur dysmorphophobie. Il s'agit d'un suivi au long cours dans le cadre d'une coopération multidisciplinaire.

Par ailleurs, l'hypoestrogénie doit être corrigée pour limiter le risque d'ostéoporose et améliorer la qualité de vie. On peut avoir recours à une contraception œstroprogestative ou un traitement hormonal substitutif.

Dans le cadre de l'infertilité, et après correction diététique, le traitement consiste en l'administration pulsatile de GnRH par une pompe sous-cutanée. En cas d'échec, il faudra utiliser une association de FSH et LH recombinantes ou une association de FSH et hCG.

Autres causes acquises

L'hypogonadisme fait partie des deux complications endocrines les plus fréquentes de l'hémochromatose, avec le diabète. Il existe des dépôts ferriques hypophysaires dans les cellules gonadotropes. Malgré le traitement par saignées, la normalisation de la fonction hypophysaire est exceptionnelle.

Les déficits hypophysaires après radiothérapie cérébrale sont de l'ordre de 80 % et peuvent survenir jusqu'à 10 ans après l'irradiation et sont présents dans 10 à 30 % des cas après un traumatisme crânien ou une hémorragie méningée, sans corrélation avec la gravité du traumatisme.

Les pathologies infiltratives et inflammatoires de l'hypophyse, telles que la sarcoïdose ou l'hypophysite lymphocytaire, peuvent entraîner un déficit gonadotrope, fréquemment associé à d'autres déficits hypophysaires.

L'hypogonadisme hypogonadotrope peut également se rencontrer dans le syndrome de Cushing, l'acromégalie et le syndrome de Sheehan ; mais il peut aussi être d'origine iatrogène, causé par les opiacés (méthadone) ou la corticothérapie à forte dose et au long cours.

Conclusion

Les insuffisances gonadotropes sont des causes fréquentes d'infertilité qu'il faut savoir détecter, car la prise en charge thérapeutique est spécifique.

Ces pathologies sont trop souvent sous-diagnostiquées. En effet, la présentation clinique est variable, tout comme le tableau hormonal. Cette variabilité doit être connue pour ne pas sous-estimer leur prévalence. Une analyse clinique minutieuse et un bilan hormonal adapté permettent de les reconnaître. La collaboration avec un endocrinologue peut s'avérer utile.

Références

[1] Silveira LFG, Latronico AC. Approach to the patient with hypogonadotropic hypogonadism. J Clin Endocrinol Metab 2013 ; 98 : 1781–8.

[2] Bry-Gauillard H, Trabado S, Bouligand J, et al. Congenital hypogonadotropic hypogonadism in females : clinical spectrum, evaluation and genetics. Ann Endocrinol 2010 ; 71 : 158–62.

[3] Brioude F, Bouligand J, Trabado S, et al. Non-syndromic congenital hypogonadotropic hypogonadism : clinical presentation and genotype-phenotype relationships. Eur J Endocrinol 2010 ; 162 : 835–51.

[4] Ghervan C, Young J. Hypogonadismes hypogonadotrophiques congénitaux et syndrome de Kallmann chez l'homme. Presse Med 2014 ; 43 : 152–61.

[5] Valdes-Socin H, Rubio Almanza M, Tomé Fernandez-Ladreda M, et al. Reproduction, smell, and neurodevelopmental disorders : genetic defects in different hypogonadotropic hypogonadal syndromes. Front Endocrinol [Internet] 2014 Jul 9 ; 5. En ligne http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2014.00109/.

[6] Pitteloud N, Dwyer A. Hormonal control of spermatogenesis in men : therapeutic aspects in hypogonadotropic hypogonadism. Ann Endocrinol 2014 ; 75 : 98–100.

[7] Dwyer AA, Raivio T, Pitteloud N. Gonadotrophin replacement for induction of fertility in hypogonadal men. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2015 ; 29 : 91–103.

[8] Sonigo C, Young J, Binart N. Hyperprolactinémie et infertilité : approche physiopathologique. Médecine/Sciences 2013 ; 29 : 242–4.

[9] Sonigo C, Bouilly J, Carré N, et al. Hyperprolactinemia-induced ovarian acyclicity is reversed by kisspeptin administration. J Clin Invest 2012 ; 122 : 3791–5.

[10] Araujo-Lopes R, Crampton JR, Aquino NSS, et al. Prolactin regulates kisspeptin neurons in the arcuate nucleus to suppress LH secretion in female rats. Endocrinology 2014 ; 155 : 1010–20.

[11] Cortet-Rudelli C, Sapin R, Bonneville JF, Brue T. Diagnostic étiologique d'une hyperprolactinémie. Ann Endocrinol 2007 ; 68 : e15–22.

[12] Prabhakar VKB, Davis JRE. Hyperprolactinaemia. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2008; 22 : 341–53.

[13] Melmed S, Casanueva FF, Hoffman AR, et al. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia : an Endocrine Society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab 2011 ; 96 : 273–88.

[14] Bonneville JF, Bonneville F, Cattin F. Magnetic resonance imaging of pituitary adenomas. Eur Radiol 2005 ; 15 : 543–8.

[15] Unuane D, Tournaye H, Velkeniers B, Poppe K. Endocrine disorders & female infertility. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2011 ; 25 : 861–73.

[16] Gordon CM. Functional hypothalamic amenorrhea. N Engl J Med 2010 ; 363 : 365–71.

Syndrome des ovaires polykystiques, une pathologie fréquente, et mal nommée

Chapitre 12

P. Bouchard

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est une affection fréquente qui touche 8 à 20 % des femmes, elle débute à l'adolescence. C'est le dysfonctionnement hormonal le plus courant de la femme.

Le SOPK se caractérise par :

- des cycles longs par dysovulation ;
- une hyperandrogénie clinique et parfois biologique ;
- un développement multifolliculaire ovarien hérité de manière autosomique et dominante.

En dehors de pathologies rares, telles que syndrome de Cushing, hyperandrogénie d'origine ovarienne par bloc de l'hormonosynthèse du cortisol (hyperplasie congénitale des surrénales par mutations sur la 21-hydroxylase – *CYP21*), tumeurs androgénosécrétantes, le SOPK est la première cause de troubles des règles, d'acné et d'hirsutisme à début pubertaire.

L'élément nouveau qui impose de revisiter son nom est qu'il s'agit d'un syndrome non seulement à composante reproductive mais aussi métabolique avec un risque élevé de syndrome métabolique, de diabète gestationnel, de diabète de type 2 et de stéatose hépatique. Cette composante métabolique est d'autant plus présente et importante qu'il existe une obésité, laquelle, ne faisant pas partie de la maladie ovarienne, en amplifie toutefois la symptomatologie reproductive mais aussi et surtout métabolique. Bien entendu cette composante métabolique perdure au-delà de la période de reproduction, après la ménopause [1, 2].

Définition

S'il est connu depuis la haute Antiquité qu'il existe chez certaines femmes l'association d'infertilité, de troubles des règles et d'hyperandrogénie, la maladie a été réellement « constatée » dès les années 1930 par deux gynécologues de Chicago : Irving Stein et Michael Leventhal. Ils ont observé, lors d'explorations chirurgicales de ces femmes, l'existence de gros ovaires, siège de multiples formations liquidiennes périphériques. Ils ont dénommé ces ovaires des « ovaires huîtres » en raison de la présence de multiples follicules ovariens situés en périphérie de l'ovaire et correspondant à des follicules normaux bloqués au stade de 7–8 mm, par défaut de sélection du follicule dominant.

La conférence de consensus de Rotterdam en 2003, co-organisée par l'*European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) et l'*American Society for Reproductive Medicine* (ASRM), a précisé les critères diagnostiques. Le diagnostic de SOPK repose sur la constatation de deux des trois éléments suivants [3] :

- troubles des règles par dysovulation ;
- hyperandrogénie clinique (acné, hirsutisme, voire alopécie androgénique) et parfois biologique ;
- ovaires multifolliculaires sur l'échographie : présence de dix follicules ou plus en périphérie de l'ovaire.

Ces critères de Rotterdam malgré des discussions concernant la nécessité, ou non, de la

constatation d'une hyperandrogénie biologique ont *in fine* reçu une reconnaissance officielle par le *National Institute of Health* (NIH) en 2012.

Autant cette définition est maintenant reconnue de manière universelle, autant elle ne recouvre que la présentation « reproductive » du syndrome, et ignore la composante métabolique. Malgré une recherche intensive d'une nouvelle terminologie pour qualifier ce syndrome reproductif mais aussi métabolique, aucune nouvelle dénomination n'a été proposée avec succès.

Répartition géographique

La répartition géographique est mondiale, avec une variation phénotypique dépendant de composantes ethniques et surtout nutritionnelles. Rappelons-le, le surpoids et l'obésité ne sont pas consubstantiels au syndrome mais quand ils existent, ils amplifient le phénomène, essentiellement en augmentant la résistance à l'insuline, anomalie hormonale, qui agit sur la synthèse des androgènes ovariens mais aussi a un impact sur le risque de syndrome métabolique et de diabète de type 2. Inversement, la perte de poids permet une normalisation du phénotype. Ceci explique que la maladie perdure depuis des siècles, alors que dans la forme classique, elle est responsable d'une infertilité.

Anomalies hormonales

Toute hyperandrogénie associée à des cycles longs suggère le diagnostic de SOPK. L'établissement du diagnostic biologique repose sur des dosages hormonaux pratiqués au deuxième jour du cycle (des règles) ou bien en aménorrhée. Ils peuvent également être pratiqués au deuxième jour des règles après la prise pendant 10 jours de progestérone ou équivalent :

- œstradiol ;
- *luteinizing hormone* (LH), *follicle-stimulating hormone* (FSH) ;
- testostérone, androstènedione ;
- prolactine (systématique en cas de dysovulation).

On y ajoute le dosage d'*anti-mullerian hormone* (AMH) qui est l'équivalent de l'échographie pelvienne et qui permet d'évaluer le nombre de petits follicules dans l'ovaire, ce qui est utile, notamment chez les adolescentes. Un taux supérieur à 3,5 ng/mL est considéré comme en faveur d'un développement multifolliculaire.

Au moindre doute, il faudra éliminer un syndrome de Cushing par un freinage minute : dosage du cortisol à 8 h après la prise de 1 mg de dexaméthasone la veille à minuit et il convient également d'éliminer un bloc en 21-hydroxylase par un dosage de 17-OH progestérone de base et après 0,25 mg de Synacthène® immédiat.

Habituellement, la testostérone est normale ou modérément élevée, la constatation d'un taux supérieur à 1,5 ng/mL est évocateur d'une tumeur androgénosécrétante ovarienne ou surrénalienne. Dans cette dernière circonstance, un hypercorticisme y est souvent associé et l'hyperandrogénie d'origine tumorale est de survenue récente et rapidement évolutive.

Le taux de LH est souvent supérieur à celui de la FSH, son élévation est probablement secondaire à la dysovulation et à sa conséquence : la non-élévation régulière de la progestérone qui, physiologiquement, ralentit la fréquence de la sécrétion pulsatile de la *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH). Certains suggèrent un mécanisme potentiellement associé : un impact des taux élevés d'insuline.

Échographie pelvienne

L'échographie pelvienne est un temps obligatoire de l'examen de ces femmes : elle montre souvent une augmentation du volume ovarien, le développement multifolliculaire caractéristique et éventuellement une hyperplasie du stroma ovarien, inconstant.

Physiopathologie

Les mécanismes sont mal élucidés mais font intervenir deux mécanismes fondamentaux : une production accrue d'androgènes ovariens et une insulino-résistance.

Production accrue d'androgènes ovariens

Elle est génétiquement programmée. Les taux élevés de testostérone entraînent un développement

multifolliculaire. Il a été suggéré que l'exposition des ovaires pouvait être d'origine maternelle, pendant la grossesse. Cette hypothèse n'a jamais reçu de confirmation puisque les androgènes maternels sont métabolisés par le placenta et le dosage dans le sang du cordon de mère porteuse d'ovaires polykystiques n'a pas montré de taux élevés. Il n'en reste pas moins que l'administration de testostérone, chez des primates prépubères, a entraîné un développement multifolliculaire chez des animaux dépourvus de gonadotrophines. Ceci a été également démontré chez des femmes transgenres recevant des injections d'androgènes. De même, au cours des hyperandrogénies surrénaliennes, par exemple au cours des blocs en 21-hydroxylase, il existe un développement multifolliculaire du fait de l'exposition ovarienne à des taux élevés d'androgènes. L'origine de l'hyperandrogénie est très probablement en rapport avec des anomalies génétiques héritées. Parmi les gènes impliqués, des données récentes impliquent un rôle central de la surexpression du gène *DENND1A (differentially expressed in normal and neoplastic cells)*, qui code pour la protéine connecdenn 1, notamment de son variant 2 *(DENND1A.V2)* impliqué dans le fonctionnement des cellules de la thèque, ce gène est localisé sur le chromosome 9 (9q33) [4].

Insulino-résistance

Elle a été évoquée dès 1976 par Kahn [5], qui a décrit l'existence d'une hyperandrogénie avec acanthosis nigricans chez des femmes présentant une insulino-résistance sévère avec des taux très élevés d'insuline en rapport avec des mutations perte de fonction des récepteurs de l'insuline. Chez ces femmes, il existe une altération de la signalisation de l'insuline et les taux élevés d'insuline agissent sur des récepteurs apparentés aux récepteurs de l'insuline : les récepteurs de l'*IGF1*, qui vont se comporter comme la LH au niveau de l'ovaire, où ces récepteurs sont exprimés. Plus récemment, il a été montré qu'un pourcentage élevé de femmes porteuses d'ovaires polykystiques présentait une résistance à l'insuline. Ceci est particulièrement évident en cas d'obésité ou de surpoids.

Un exemple expérimental du rôle des taux élevés d'insuline sur la fonction ovarienne a été fourni par l'étude de femmes présentant une lipoatrophie génétique [6] : chez ces femmes, il existe des taux élevés d'insuline et une hyperandrogénie, la correction de l'hyperinsulinisme par l'administration de leptine recombinante corrige l'hyperandrogénie.

Génétique

Le SOPK est à transmission autosomique et dominante comme le montre l'étude des jumelles homozygotes où la deuxième jumelle est atteinte dans 70 % des cas. De même l'étude des sœurs de femmes présentant des ovaires polykystiques montre qu'elles présentent des ovaires multifolliculaires dans 50 % des cas, et même un syndrome complet dans un certain nombre de cas, notamment en cas d'obésité.

Cette transmission génétique clairement démontrée fait appel à plusieurs gènes, c'est donc bien une pathologie oligogénique sur laquelle l'environnement vient apporter une aggravation éventuelle notamment par le biais de l'insulino-résistance.

Dans un premier temps, de multiples gènes candidats ont été étudiés, mais aucun n'a apporté de contribution significative.

Les progrès sont venus de l'étude du génome (*genome wide association studies* ou GWAS), réalisées en Chine chez les Chinoises han porteuses du SOPK [7, 8]. Onze loci associés au syndrome ont été mis en évidence et ont apporté un éclairage nouveau en montrant une liaison forte avec des gènes du diabète de type 2, des gonadotrophines et de leurs récepteurs et de la synthèse des androgènes. Ces résultats ont été confirmés récemment par un consortium États-Unis–Europe [9]. Les loci impliqués sont LHCGR, FSHR, DENND1A, INSR, RAB5B, et THADA, tous régulateurs de la production androgénique par les cellules de la thèque et/ou associés au diabète de type 2.

Il apparaît ainsi clairement que le SOPK est une maladie génétique incluant les gènes impliqués dans la folliculogenèse, la synthèse des androgènes et le diabète de type 2. La composante génétique est impliquée pour environ 70 % du mécanisme du syndrome.

Risques liés au syndrome des ovaires polykystiques

Risque métabolique

Ce risque est donc important et peut être associé à la dysovulation ou survenir plus tard et perdurer au-delà de la période de reproduction. Ce risque est d'autant plus important qu'il existe une obésité et une résistance à l'insuline significative.

Un syndrome métabolique est observé dans plus de 20 % des cas de syndrome des ovaires polykystiques (risque relatif ou RR : 2,8). Le risque relatif de prédiabète de type 2 est de 2,5 et celui de type 2 atteint plus de 4 en cas de surpoids.

Le diabète gestationnel est observé chez 22 % des SOPK dans une étude récente faites aux Pays-Bas.

Ces faits justifient une surveillance glycémique et une hyperglycémie *per os* (HGPO) au cours de la surveillance des SOPK.

Enfin, récemment un fort pourcentage de stéatose hépatique a été mis en évidence notamment en cas de surpoids. Cette stéatose est objectivée par des anomalies des transaminases et par l'échographie hépatique. La stéatose doit inciter à une prise en charge médicale en raison du risque de cirrhose et de ses conséquences.

Risque cardiovasculaire

Malgré l'existence de multiples facteurs de risque et d'anomalies de marqueurs d'inflammation, et malgré l'augmentation de journées d'hospitalisation observée en Australie [10], l'augmentation du risque cardiovasculaire chez les femmes présentant un SOPK est incertaine en dehors de facteurs de risque associés comme l'hypertension artérielle, bien sûr le diabète de type 2, une hypercholestérolémie [11].

Risque de cancer

Le risque de cancer est associé à la dysovulation, responsable d'une hyperplasie de l'endomètre, et éventuellement à l'insulino-résistance comme dans le diabète de type 2.

Traitement

Dans la mesure où il s'agit d'une pathologie syndromique dont la physiopathologie est incomplètement élucidée, le traitement est essentiellement symptomatique.

En l'absence de désir de grossesse, le traitement doit comporter un traitement progestatif séquentiel et des mesures hygiéno-diététiques.

Le traitement de l'acné et de l'hirsutisme se fait en deux temps :

- prescription d'une contraception œstroprogestative, contenant notamment du norgestimate ;
- association d'un anti-androgène comme l'acétate de cyprotérone à une supplémentation œstrogénique, au mieux par œstrogène transdermique.

Dans tous les cas, des mesures hygiéno-diététiques doivent être proposées avec perte de poids, ceci afin de corriger l'insulino-résistance et améliorer les symptômes et le risque métabolique.

La metformine est indiquée chaque fois qu'il existe une insulino-résistance ou bien sûr un diabète de type 2 ou une intolérance aux hydrates de carbone. Ce traitement corrige la résistance à l'insuline, en agissant sur l'AMP-kinase. En relation avec cette efficacité, son usage améliore le risque métabolique et éventuellement les symptômes. Il n'a cependant aucune efficacité dans le traitement de l'infertilité.

Le traitement de l'infertilité n'a qu'un seul objectif : corriger l'anovulation. Il a été revu extensivement au cours de la conférence de consensus de Thessalonique, organisée par l'ESHRE et l'ASRM en 2008 [12].

La prise en charge de l'anovulation repose sur :

- des mesures hygiéno-diététiques : une perte de poids reposant sur une diététique excluant les sucres rapides. Une étude récente a montré de manière convaincante que 4 mois de régime avant le traitement inducteur de l'ovulation améliorent très notablement les performances de celui-ci ;
- le citrate de clomifène (Clomid®) : prescrit du 2e au 7e jour des règles, sa dose initiale doit impérativement être de 50 mg/jour, avec surveillance échographique aux 8e et 10e jours du cycle traité. En cas d'échec, la dose peut être augmentée à 100 mg/jour. L'adjonction d'un traitement œstrogénique pour améliorer la glaire est inutile.

Le taux d'ovulation est d'environ 80 % et le taux de grossesse de 50 %.

Récemment Legro *et al.* [13] ont rapporté de bons résultats avec un autre inducteur de l'ovulation, un inhibiteur de l'aromatase, le letrozole, supérieurs au citrate de clomifène. Cependant dans cette étude, l'indice de masse corporelle (IMC) moyen était supérieur à 30, ce qui ne ressemble guère à la population européenne ; par ailleurs en raison d'un potentiel effet tératogène ou épigénétique, ce traitement n'est pas autorisé en Europe ;

- en cas d'échec du Clomid®, deux modalités sont possibles :
  - le traitement par de faibles doses de FSH selon le protocole de Franks : il donne d'excellents résultats sans risque d'hyperstimulation. Le principe est de commencer par un palier de 7 à 14 jours à faible dose : 37,5 UI. La dose est ensuite augmentée de 50 % par palier de 7 jours pour aboutir idéalement à un ou deux follicules supérieurs ou égaux à 14 mm. Les résultats sont identiques au traitement par Clomid® ;
  - le drilling ovarien : cette technique chirurgicale doit faire appel à un nombre limité de ponctions ovariennes, au maximum de quatre. Les résultats du drilling sont bons mais ce traitement doit souvent faire appel à un traitement complémentaire par clomifène ou FSH.

Conclusion

Au total, le SOPK est une maladie familiale, imposant d'ailleurs un dépistage familial, elle associe trouble des règles et hyperandrogénie. Sa transmission est dominante, le risque métabolique est certain, justifiant un éventuel changement de son nom pour mieux mettre en avant ses deux composantes : reproductive, avec anovulation et hyperandrogénie, et métabolique, avec son risque de syndrome métabolique, de diabète de type 2 et de stéatose. La surveillance de ces femmes doit s'étendre bien au-delà de la période de reproduction.

Enfin, la fertilité de ces femmes n'est pas dramatiquement perturbée puisque l'étude systématique de 6000 Finlandaises nées en 1966, dont plus de 20 % présentent un SOPK, montre que ces femmes ont en moyenne, avec ou sans traitement, deux enfants avec simplement une première conception retardée.

L'essentiel est donc de penser à cette pathologie devant tout trouble des règles à début pubertaire, notamment s'il existe une acné ou un hirsutisme. Il faut également y penser en cas d'obésité associée à des troubles des règles. Tous les médecins impliqués (pédiatres, généralistes, gynécologues et endocrinologues) doivent collaborer pour la prise en charge de ces femmes de la puberté à la période de reproduction et au-delà [14].

Références

[1] Conway G, et al. The polycystic ovary syndrome : a position statement from the European Society of Endocrinology. Eur J of Endocrinol 2014 ; 171 : 1–29.

[2] Franks S. Polycsytic ovary syndrome : not just a fertility problem. Womens Health 2015 ; 11 : 433–6.

[3] Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long term health risks related to PCOS. Human Reprod 2004 ; 19 : 41–7.

[4] Mc Allister J, et al. Overexpression of a DENND1A isoforms produces a polycystiv ovary syndrome theca phenotype. Proc Natl Acad Sci USA E 2014 ; 1519–27.

[5] Kahn CR, et al. The syndome of insulin resistance and acanthosis resistance. New Engl J Med 1976 ; 294 : 739–45.

[6] Lungu AO, et al. Insulin resistance is a sufficient basis for hyperandrogenism in lipodsystrophic women with PCOS. J Clin Endocrinol Metab 2012 ; 97 : 563–7.

[7] Chen ZJ, et al. Genome wide association study identifies susceptibility loici for PCOS on chromosome 2p16, 2p21 and 9q33.3. Nat Genet 2011 ; 43 : 55–9.

[8] Shi Y, et al. Genome wide association study identifies eight new risk loci for PCOS. Nat Genet 2012 ; 44 : 10220–5.

[9] Hayes MG, et al. Genome-wide association of polycystic ovary syndrome implicates alterations in gonadotropin secretio in European ancestry populations. Nat Commun 2015 ; 6 : 7502.

[10] Hart R, Doherty DA. The potential implications of a PCOS diagnosis on a woman's long term health using data linkage. J Clin Endocrinol Metab 2015 ; 100 : 911–9.

[11] Fauser BC, Bouchard P. Uncertainty remains in women with PCOS regarding the increased incidence of cardiovascular disease later in life despite the indsiputable presence of multiple cardiovascular risk factors at a young age. J Clin Endocrinol Metab 2011 ; 96 : 3675–7.

[12] Thessaloniki ESHRE/ASRM-sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Consensus on infertility traetment related to PCOS. Hum Reprod 2008 ; 23 : 462–77.

[13] Legro RS, et al. Randomized controlled trial of preconception interventions in infertile women with PCOS. J Clin Endocrinol Metab 2015 ; in press.

[14] Bouchard P, Fauser BC. PCOS : an heterogenous condition with multiple faces for multiple dosctors. Eur J Endocrinol 2014 ; 171 : E1–2.

Infertilité du couple : la première consultation

Chapitre 13

C. Yazbeck

L'infertilité du couple est multifactorielle. On estime qu'en moyenne, un couple sur six consulte pour un problème d'infertilité primaire ou secondaire. Le délai entre le désir de grossesse et la première consultation pour infertilité varie principalement en fonction de l'âge de la femme et du niveau d'information sur les délais naturels de conception à la portée du couple qui recherche une aide médicale.

Devant une première consultation pour infertilité, le spécialiste doit mener une enquête exhaustive afin de pouvoir établir un diagnostic et une démarche thérapeutique qui peut aller de simples recommandations de modifications de style de vie jusqu'à la fécondation *in vitro* (FIV).

Étant donné le caractère spécifique de cette consultation, les informations récupérées par le spécialiste intéressent principalement le couple dans son ensemble (aussi bien la femme que l'homme) notamment en ce qui concerne l'âge, l'histoire clinique et les antécédents, mais aussi en ce qui concerne les bilans à réaliser que ce soit en première ou en seconde intention.

Interrogatoire et explorations de la femme

L'ancienneté et le type d'infertilité sont des paramètres importants à relever. L'interrogatoire de la femme doit être méthodique et complété par un examen clinique à la recherche d'étiologies possibles.

Âge

Les femmes naissent avec un capital folliculaire bien défini. Avec l'âge, ce capital diminue en quantité et en qualité. En conséquence, les délais de conception augmentent ainsi que les risques d'infertilité, de fausses couches et de complications obstétricales. L'âge étant un facteur incontrôlable, si à 30 ans les chances de concevoir spontanément par cycle sont de l'ordre de 20 %, celles-ci sont réduites à 5 % à 40 ans.

Par ailleurs, les femmes âgées ont plus de risque de développer un diabète gestationnel, de présenter des anomalies de placentation (placenta praevia, hématome rétroplacentaire) et d'avoir un accouchement dystocique ou une mort fœtale *in utero*.

Poids

L'indice de masse corporelle (IMC) est un indicateur fréquemment utilisé pour évaluer le poids. Une femme est en surpoids lorsque l'IMC est entre 25 et 29,9 kg/m^2 et obèse au-delà de 30 kg/m^2. L'obésité peut affecter la fertilité en causant un déséquilibre hormonal et une dysovulation, en particulier chez les nullipares. L'obésité est associée au syndrome des ovaires kystiques (SOPK), cause fréquente d'infertilité. Elle augmente le risque de complications obstétricales (fausses couches, hypertension, pré-éclampsie, diabète gestationnel, infections, phlébites, travail dystocique, accouchement par césarienne) et de morbidité et de mortalité néonatales. Une réduction du poids avant la conception permet de diminuer ces risques [1].

Antécédents

Gynéco-obstétricaux

On note en particulier l'âge des premières règles, la longueur du cycle, un syndrome

prémenstruel, la durée des règles, le mode de contraception utilisé antérieurement, les grossesses antérieures et leur issue (IVG, fausse couche spontanée, grossesse extra-utérine ou GEU, accouchement), la notion d'infection génitale basse ou haute (salpingite), les explorations chirurgicales utéro-annexielles avec si possible le compte rendu opératoire et les traitements déjà prescrits.

Médicaux

Recherche d'une maladie chronique (diabète, hypertension, dysthyroïdie), d'un antécédent de maladie infectieuse (tuberculose) ou d'un cancer traité par chimiothérapie ou radiothérapie.

Chirurgicaux

Appendicite compliquée ou toute autre chirurgie digestive ou pelvienne.

Facteurs environnementaux et style de vie

Tabac

Le tabagisme actif chronique (> 10 ans) a des effets délétères sur la fécondabilité. Des effets négatifs du tabagisme passif (inhalation de fumée du conjoint ou d'autres personnes vivant avec la patiente) ont été également décrits mais restent controversés [2]. Les délais de conception sont plus longs chez les fumeurs que les non-fumeurs et les problèmes d'infertilité sont deux fois plus fréquents. Si un partenaire masculin est un gros fumeur, cela contribuera sensiblement à un retard de la conception. Le tabagisme pendant la grossesse expose aux risques de retard de croissance intra-utérin et de faible poids de naissance. On estime que la plupart des effets négatifs du tabagisme sur la fécondité sont inversés après 12 mois d'arrêt du tabac.

Alcool

L'abus d'alcool peut certainement avoir une incidence sur la fécondité, l'augmentation des délais de conception et réduire les chances d'avoir un bébé en bonne santé. Si les recommandations internationales sur l'alcool limitent la consommation pour les femmes en bonne santé à moins de deux verres par jour et à moins de quatre verres par occasion, pour les femmes qui sont enceintes ou qui planifient une grossesse ou qui allaitent, ne pas boire est l'option la plus sûre [3].

Autres facteurs

D'autres facteurs ont été incriminés dans l'hypofertilité comme les consommations importantes de caféine (> 500 mg/j), de drogues, de certains médicaments et expositions professionnelles à des toxiques chimiques, métaux lourds, polluants organiques…

Bilan préliminaire

Bilan hormonal de la réserve ovarienne

Selon les dernières recommandations du Collège national des gynécologues et obstétriciens français (CNGOF) [4], il est indiqué de faire un bilan de réserve ovarienne chez la femme d'un couple pris en charge pour infertilité, avant assistance médicale à la procréation (AMP), et surtout en présence de signes d'appel vers une baisse de la réserve ovarienne (âge > 35 ans, cycles courts, irrégularité du cycle, antécédents familiaux d'insuffisance ovarienne, antécédents personnels de chirurgie ovarienne).

Les marqueurs validés de la réserve ovarienne sont la FSH *(follicle-stimulating hormone)* couplée à l'estradiol et l'AMH *(anti-mullerian hormone)*. Une bonne interprétation de la FSH requiert le dosage conjoint de l'estradiol le même jour en début de cycle (J2-J4). Malgré sa faible variabilité pendant le cycle, l'AMH est souvent dosée en début du cycle également. Les tests dynamiques ne sont plus recommandés. On associe fréquemment à ce bilan préliminaire un dosage de prolactine et de TSH *(thyroid stimulating hormone)* pour éliminer une hyperprolactinémie ou une dysthyroïdie qui peuvent être à l'origine d'une infertilité.

Mise à part une élévation franche de la FSH, la décision de prise en charge en AMP tiendra compte de plusieurs facteurs et arguments réunis et non d'un seul marqueur.

Échographie pelvienne

Il est recommandé de réaliser une échographie pelvienne par voie endovaginale à J2-J4 du cycle

en première intention (CNGOF). Celle-ci permet le dépistage habituel d'anomalies pelviennes utérines et annexielles et en particulier :

- un comptage exhaustif et chiffré des follicules antraux (follicules de 2 à 9 mm) dans chaque ovaire;
- la localisation des ovaires (accessibilité à une éventuelle ponction);
- la mesure de la distance entre l'orifice cervical externe et le fond utérin et l'angulation col/corps;
- l'épaisseur et le statut endométrial;
- les Dopplers des artères utérines (index de pulsatilité ou IP, index de résistance ou IR, présence de Notch);
- la notification d'une éventuelle image annexielle évocatrice d'un hydrosalpinx.

Le compte des follicules antraux est un marqueur validé de la réserve ovarienne. AMH et compte des follicules antraux donnent une information comparable [5]. À ce jour, l'échographie en mode 3D n'est pas supérieure au mode 2D pour le comptage folliculaire. En revanche, l'échographie 3D montre sa supériorité dans le diagnostic et la classification des malformations utérines.

Lorsque les autres paramètres sont normaux (âge < 35 ans, état du cycle, FSH basale), l'AMH et le comptage folliculaire sont utiles pour évaluer l'urgence de la prise en charge en AMP et fixer les modalités de la stimulation de l'ovulation.

Sérologie *Chlamydiae*

La présence d'anticorps anti-*Chlamydiae* est un marqueur d'une exposition antérieure au *Chlamydia*, facteur étiologique le plus fréquent des atteintes infectieuses génitales hautes. Les publications colligeant les pathologies pelviennes retrouvées en cœlioscopie chez des femmes séronégatives objectivent la faible sensibilité (67 %) de cet examen, même s'il est couplé à une anamnèse et à une échographie pelvienne. Dans la méta-analyse de Mol *et al.* [6], la sérologie *Chlamydiae* montre des résultats comparables à ceux de l'hystérosalpingographie dans le diagnostic d'obstruction tubaire ou d'hydrosalpinx. Malgré une certaine valeur prédictive positive (35 %) et négative (91 %) dans le diagnostic des pathologies tubaires bilatérales d'origine infectieuse, cette sérologie reste décevante dans le contexte général pour le diagnostic d'une étiologie non infectieuse de l'infertilité, la valeur prédictive négative se réduisant à 65 % dans ce cas-là.

Hystérosalpingographie (HSG)

La fiabilité de l'HSG dans l'évaluation tubopéritonéale n'est pas absolue non plus. Selon la méta-analyse de Swart *et al.* [7], l'HSG présente une bonne spécificité (83 %) mais une faible sensibilité (65 %) dans le diagnostic d'une obstruction tubaire. Par ailleurs, l'interprétation de l'HSG présente une variabilité interopérateur non négligeable, estimée à plus de 20 %, ce qui traduit le caractère délicat de cet examen dans sa réalisation et son interprétation. L'HSG, la sérologie *Chlamydiae* ou l'association des deux peuvent être utilisées comme des tests diagnostiques dans l'évaluation primaire d'une infertilité d'origine tubaire. Toutefois, l'HSG reste l'examen d'imagerie recommandé en première intention pour l'exploration tubaire dans un contexte d'infertilité, car elle réalise encore le meilleur compromis innocuité/efficacité [8].

Bilan secondaire

Cœlioscopie

La fiabilité de l'HSG n'étant pas absolue dans la pathologie tubaire obstructive, et d'autant moins dans les autres étiologies d'infertilité péritonéo-pelvienne telles que l'endométriose ou les adhérences tubo-ovariennes, l'intérêt d'une cœlioscopie diagnostique s'avère important dans certaines situations cliniques [9] :

- systématiquement devant une pathologie tubaire suspectée à l'HSG afin d'établir un pronostic tubaire précis et de proposer un traitement convenable : fimbrioplastie, néosalpingostomie, reperméabilisation tubaire ou salpingectomie;
- en cas de forte présomption de pathologies pelviennes dont le traitement peut améliorer le pronostic de fertilité : endométriose ou adhérences pelviennes;
- en cas d'infertilité inexpliquée avec une bonne réserve ovarienne, puisque des pathologies pelviennes isolées ou associées, jusque-là méconnues, sont découvertes dans plus de 60 % des cas;
- en cas de résistance au citrate de clomiphène dans les SOPK, en alternative aux gonadotrophines;

- en cas d'échec d'insémination intra-utérine (IIU) surtout si le passage en FIV n'est pas souhaité ou bien n'est pas possible.

Il faut donc insister sur les multiples avantages que peut procurer la cœlioscopie en matière de diagnostic et de pronostic de fertilité. Les gestes chirurgicaux pratiqués au cours de celle-ci améliorent très significativement la fertilité spontanée et permettent donc d'éviter le recours trop systématique à l'AMP. La cœlioscopie est donc recommandée en seconde intention principalement en cas de pathologie tubo-pelvienne suspectée.

Hystéroscopie

Bien que certains auteurs aient montré l'intérêt d'une hystéroscopie diagnostique systématique avant toute prise en charge en FIV [10], l'hystéroscopie est principalement indiquée en cas de suspicion d'anomalie endocavitaire afin de vérifier l'intégrité de la cavité utérine, l'aspect de l'endomètre et sa trophicité, et de traiter une synéchie utérine, un polype endométrial ou un myome sous-muqueux, le cas échéant. Elle permet aussi de traiter une cloison utérine avant AMP [11].

Interrogatoire et explorations de l'homme

Il existe dans la littérature un lien indirect entre l'infertilité masculine et les antécédents génitaux d'une part, et l'exposition environnementale ou professionnelle et le mode de vie d'autre part, soulignant ainsi l'importance de l'anamnèse dans la prise en charge de l'homme infertile et justifiant un examen clinique centralisé sur les organes génitaux.

Âge

L'âge du père peut avoir un impact sur les délais de conception, les risques de fausse couche et la santé de l'enfant. En effet, la qualité du sperme diminue avec l'âge ce qui a pour conséquence d'augmenter les risques d'hypofertilité ou d'infertilité. Le volume spermatique et la mobilité sont en décroissance constante entre 20 et 80 ans [12].

À plus de 45 ans, le risque de fausses couches est deux fois plus élevé par rapport aux hommes de moins de 25 ans et ce, quel que soit l'âge de la femme. Le risque de néo-mutation entraînant nanisme, hydrocéphalie, augmente avec l'âge paternel et nécessite une information précise mais il n'y a aucune limite légale à opposer de la part des médecins selon l'âge du père.

Poids

Les hommes obèses ou en surpoids ont une qualité de sperme inférieure à celle des hommes ayant un poids normal. La surcharge pondérale et l'obésité peuvent également provoquer des changements hormonaux avec diminution des taux de testostérone qui réduisent la fertilité et la libido. Les hommes sont également plus susceptibles d'éprouver des problèmes d'érection. Ensemble, ces facteurs contribuent à réduire les chances de paternité des hommes qui sont en surcharge pondérale importante.

Antécédents

Médicaux

La notion de paternité d'une précédente union est notée. Des difficultés éventuelles de conception sont relevées (délai à l'obtention d'une grossesse, spontanée ou médicalisée). Les antécédents andrologiques sont aussi détaillés : développement de la puberté, notion de traumatisme testiculaire, de cryptorchidie, antécédents d'infections urinaires ou génitales (modalités de diagnostic et traitement). Des troubles de la miction doivent entraîner un bilan urologique car une simple sténose de l'urètre peut être la cause de l'infertilité.

Chirurgicaux

La notion d'intervention chirurgicale sur les testicules ou d'une cure chirurgicale pour hernie inguinale, éventuellement bilatérale, est relevée (risque de ligature du canal déférent lors du geste).

Facteurs environnementaux et style de vie

Tabac

Le risque d'infertilité chez les fumeurs peut être le double de celui des non-fumeurs. Si un partenaire masculin est un gros fumeur, cela contribuera sensiblement à un retard de la conception par l'intermédiaire du tabagisme passif. Les gros fumeurs produisent jusqu'à 20 % moins de sperme que les non-fumeurs. L'ADN spermatique peut également être endommagé par les substances chimiques présentes dans la fumée de cigarette, ce qui augmente les taux de fragmentation [13].

Alcool

Les mécanismes par lesquels l'alcool peut influencer la fertilité sont peu connus chez l'homme, mais l'alcoolisme peut entraîner une impuissance, réduire la libido et altérer la qualité spermatique [14]. Une étude sur la consommation d'alcool dans l'année précédant le traitement de l'infertilité a montré une diminution des chances de naissances vivantes liée à la consommation d'alcool à la fois chez l'homme et chez la femme.

Autres facteurs

Consommation de drogues, métiers à risque (exposant les testicules à la chaleur pendant de longues périodes), bains chauds fréquents, et certains traitements médicamenteux (chimiothérapie, traitements pour les chutes de cheveux…).

Bilan préliminaire (spermiologie)

Spermogramme et spermocytogramme

Le référentiel de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) de 2010 définit de nouveaux seuils à partir d'une population fertile de référence. Selon les recommandations en vigueur, les biologistes doivent faire figurer ces valeurs dans le compte rendu.

Malgré les limites du spermogramme en termes de sensibilité et de spécificité, le spermogramme avec spermocytogramme reste la base de l'exploration de l'homme infertile, qui pourra être orienté vers un spécialiste en andrologie ou en médecine de la reproduction après confirmation de l'anomalie.

Compte tenu de la forte variabilité d'interprétation des résultats, il est conseillé de réaliser un spermogramme avec spermocytogramme dans un laboratoire de spermiologie agréé en AMP et d'envisager un contrôle sur un second échantillon en cas d'anomalies.

Spermoculture

Les infections bactériennes peuvent avoir un effet négatif sur les paramètres spermatiques et exposent au risque de contamination des milieux de culture en cas d'AMP. Il n'existe pas à ce jour d'étude de niveau de preuve élevé démontrant l'intérêt d'une spermoculture systématique dans le diagnostic et la prise en charge de l'infertilité masculine. Néanmoins, il est important de la prescrire devant des signes d'appel infectieux. La spermoculture est obligatoire avant AMP et doit dater de moins de 6 mois.

Test de migration survie (TMS)

Il est recommandé de faire un TMS avant la pratique d'une AMP. Celui-ci est utile pour sélectionner le type de technique à envisager, mais son intérêt pour diagnostiquer une pathologie spermatique n'a pas été suffisamment évalué.

Test post-coïtal (TPC)

L'intérêt du TPC est très limité dans la mesure où il existe une grande hétérogénéité dans la définition de la positivité du test. De plus, cet examen souffre d'une grande variabilité interopérateur. Aucune étude à haut niveau de preuve ne permet d'affirmer l'intérêt du TPC systématique dans la prise en charge des couples infertiles ou dans la prédiction de grossesse naturelle [15]. De ce fait, il n'est plus recommandé systématiquement et il est remplacé par un spermogramme qui donne des informations plus complètes.

Bilans secondaires

Échographie testiculaire et autres imageries

En cas d'anomalies spermiologiques sévères et/ou de signes cliniques ou anamnestiques, une échographie testiculaire est indiquée et peut être couplée d'une échographie prostatique en cas de suspicion d'une prostatite chronique ou de lésions obstructives. En effet, on retrouve une prévalence élevée des anomalies testiculaires chez les hommes infertiles, d'où l'intérêt de l'échographie scrotale pour la détection de certaines d'entre elles, en particulier les lésions tumorales dans ces groupes à risque [16].

Fragmentation et décondensation de l'ADN spermatique, biochimie séminale

Ces examens peuvent être indiqués sur indications spécifiques variables d'un centre à l'autre, mais rarement en première intention.

Autres tests pour le couple

En cas d'une indication évidente de prise en charge en AMP, les tests de sécurité sanitaire (dépistage VIH, VHB, VHC et syphilis) sont obligatoires, et peuvent être demandés dès la première consultation. Les résultats doivent dater de moins de 3 mois avant la première tentative, puis renouvelés tous les ans.

Conclusion

La conduite d'une première consultation chez un couple infertile doit être méthodique et complète. Plusieurs points importants peuvent être relevés de l'anamnèse et permettent d'orienter le diagnostic ainsi que les bilans préliminaires à réaliser chez l'homme et la femme. Des bilans plus spécialisés peuvent être indiqués secondairement.

Ne pas oublier que l'âge de la femme est le facteur pronostique le plus important pour l'obtention d'un enfant en bonne santé. L'âge de l'homme influence également ce pronostic.

Une modification du style de vie (arrêt du tabac et de l'alcool, alimentation saine, perte de poids en cas de surpoids ou d'obésité) permet d'améliorer les chances de grossesse et de raccourcir les délais de conception.

Références

[1] Barton JR, Sibai AJ, Istwan NB, et al. Spontaneously conceived pregnancy after 40: influence of age and obesity on outcome. Am J Perinatol 2014; 31 : 795–8.
[2] Radin RG, Hatch EE, Rothman KJ, et al. Active and passive smoking and fecundability in Danish pregnancy planners. Fertil Steril 2014; 102 : 183–91 e2.
[3] Elliott EJ. Fetal alcohol spectrum disorders in Australia--the future is prevention. Public Health Res Pract 2015; 25.
[4] Ferté-Delbende C, Catteau-Jonard S, Barrière P, Dewailly D. Evaluation of the ovarian reserve. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2010; 39 : S27–33.
[5] Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, et al. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. Hum Reprod Update 2006; 12 : 685–718.
[6] Mol BW, Dijkman B, Wertheim P, et al. The accuracy of serum chlamydial antibodies in the diagnosis of tubal pathology : a meta-analysis. Fertil Steril 1997; 67 : 1031–7.
[7] Swart P, Mol BW, van der Veen F, et al. The accuracy of hysterosalpingography in the diagnosis of tubal pathology : a meta-analysis. Fertil Steril 1995; 64 : 486–91.
[8] Torre A, Pouly JL, Wainer B. Anatomic evaluation of the female of the infertile couple. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2010; 39 : S34–44.
[9] Yazbeck C, Le Tohic A, Koskas M, Madelenat P. Diagnostic laparoscopy in current fertility practice : Pros. Gynecol Obstet Fertil 2010; 38 : 424–7.
[10] Pundir J, Pundir V, Omanwa K, et al. Hysteroscopy prior to the first IVF cycle : a systematic review and meta-analysis. Reprod Biomed Online 2014; 28 : 151–61.
[11] Yazbeck C, Fauconnier A, Pouly JL. Reproductive surgery. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2010; 39 : S75–87.
[12] Belloc S, Hazout A, Zini A, et al. How to overcome male infertility after 40: influence of paternal age on fertility. Maturitas 2014; 78 : 22–9.
[13] Zenzes MT. Smoking and reproduction : gene damage to human gametes and embryos. Hum Reprod Update 2000; 6 : 122–31.
[14] Muthusami KR, Chinnaswamy P. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. Fertil Steril 2005; 84 : 919–24.
[15] Collège national des gynécologues et obstétriciens français,. Management of the infertile couple. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2010; 39 : S113–8.
[16] Freour T, Delvigne A, Barrière P. Evaluation of the male of the infertile couple. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2010; 39 : S45–52.

Importance des facteurs toxiques, de la nutrition, du poids et de l'environnement dans la fertilité du couple

Chapitre 14

S. Alvarez

L'infertilité en France

En France un couple sur quatre à six est concerné par une infécondité d'un an.

Le niveau relativement élevé de la fécondité en France par rapport à ses voisins ne doit pas donner l'illusion d'une absence des troubles de la fertilité dans la population.

Les problèmes recensés sont :

- la détérioration des paramètres spermatiques dans certaines régions des pays industrialisés ;
- l'augmentation de l'incidence du cancer du testicule en Europe et l'augmentation des anomalies de l'appareil génital masculin de type hypospadias et ectopies [1] ;
- l'augmentation des dysthyroïdies, et surtout l'augmentation des cancers de la thyroïde chez la femme de moins de 40 ans, avec des conséquences sur la fertilité.

Le *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* (BEH) de l'Institut de veille sanitaire de février 2012 a édité un numéro spécial triple sur les enjeux environnementaux pour la fertilité humaine.

Prévenir l'infertilité

Prévention

La prise en charge de l'infertilité devrait se placer dans un autre cadre que la thérapeutique et les techniques invasives : l'objectif est de situer le couple dans un contexte humain et émotionnel autre que les « techniques invasives », dans ces conditions le dépistage des modes de vie influençant la fertilité devrait se développer de plus en plus en infertilité et ce dépistage devrait faire partie du dossier du couple.

Cette prévention secondaire passe par la modification des comportements et donc par le dépistage des modes de vie altérant la fertilité lors d'une consultation d'infertilité.

Il n'est jamais trop tard pour alerter et informer les jeunes femmes et les jeunes hommes. La prévention primaire doit être entreprise dès la grossesse et permettrait de protéger la fertilité future de l'enfant à naître : ainsi, la nutrition maternelle a une incidence majeure sur la fertilité de la descendance.

La période périconceptionnelle a aussi une grande importance sur le long terme, les facteurs gonadotoxiques (par exemple tabac, alcool) devraient être diminués voire arrêtés dès l'interruption de la contraception et au moins 3 mois avant la conception.

Environnement

Dans l'environnement, on rencontre 400 000 millions de tonnes de produits chimiques, et actuellement 500 à 1000 substances sont mises en cause dans les problèmes d'infertilité.

Les facteurs toxiques responsables d'infertilité se rencontrent dans l'environnement (pollution, perturbateurs endocriniens, produits anti-alopécie), dans la nutrition (déséquilibres, produits dits phytosanitaires) et aussi dans les modes de vie (alimentation industrielle, cosmétiques, tabac).

Cette contamination intra-utérine laisse des traces à l'âge adulte : stress, sensibilité ou appétence aux toxiques, qualité de vie, nutrition [2].

Perturbateurs endocriniens

Ils interviennent dans l'homéostasie de la reproduction en modifiant la balance androgènes–œstrogènes. Cette modification provoque une reprogrammation des stéroïdes sexuels.

On retrouve ainsi, deux « fenêtres critiques » : les périodes fœtale et post-natale (troubles de la différenciation sexuelle, puberté précoce).

Lors de la puberté et de l'âge adulte, la fertilité est la première impactée [3].

Les facteurs d'infertilité acquis à l'âge adulte sont le stress, les toxiques, la qualité de vie, la nutrition [4]. Parmi les produits du quotidien, on retrouve très fréquemment les traitements anti-chute de cheveux particulièrement chez l'homme avec l'utilisation prolongée du finastéride [5].

Le généticien anglais Marcus Pembrey a fait une découverte étonnante : les enfants de la troisième génération, aujourd'hui âgés, souffrent quatre fois plus souvent de diabète de type 2 si leur grand-père a connu une période de récoltes importantes, cela montre la relation entre nutrition et modification du génome.

Les perturbateurs endocriniens les plus connus actuellement sont : les phtalates, le bisphénol A et les dioxines que l'on rencontre surtout dans les produits cosmétiques et les plastiques.

Facteurs toxiques liés au comportement

Ils sont avant tout liés au mode de vie.

La consommation du cannabis est en constante augmentation : une augmentation de 24 % chez des adultes a été constatée en 2011 et de 39 % dès l'âge de 15–16 ans.

L'alcool est aussi en augmentation chez les jeunes, y compris sous la forme d'intoxications profondes mais espacées.

Facteurs toxiques les plus courants

- Tabac : 4500 composants, 39 % de fumeurs entre 18 et 44 ans, 60 000 décès par an.
- Alcool : 45 000 décès par an, forte morbidité associée, augmentation de consommation chez les 16–20 ans [6].
- Cannabis : en termes de toxicité, un joint équivaut à cinq cigarettes ; 1,2 million de consommateurs. À 17 ans la consommation est régulière chez 15 % des garçons et 6 % des filles.
- Médicaments psychotropes : 12 % des hommes et 20 % des femmes en utilisent régulièrement, surtout les antidépresseurs (6 % des hommes et 12 % des femmes), et dès l'adolescence (à 17 ans, 8 % des garçons et 22 % des filles) d'après l'Institut national de prévention et d'éducation pour la santé [7].

L'Australie et les pays nordiques ont pris conscience des implications de l'effet des modes de vie sur la fertilité [8]. Ils concluent que la modification de ces modes de vie permettrait aux couples de concevoir spontanément et d'optimiser les chances au cours de l'assistance médicale à la procréation (AMP).

Tabac et fertilité

Dans notre étude [9] 48 % de nos consultants en infertilité consomment du tabac.

Chez la femme, des études récentes montrent que la consommation de tabac génère un délai de conception de plus d'un an, qui est dose-dépendant avec la durée d'exposition : 2 fois plus de risque d'être infertile, diminution de la réserve ovarienne, cycles courts et irréguliers, davantage d'insuffisances ovariennes et de dysménorrhées.

Des produits contenus dans le tabac (cotinine, acdmium, peroxyde d'oxygène) sont retrouvés dans l'ovaire, avec des altérations sur la qualité des ovocytes. Les hydrocarbures présents dans le tabac ont une incidence sur l'augmentation de l'insuffisance ovarienne constatée chez les femmes jeunes et cette augmentation est en lien avec la durée de l'exposition au tabac.

Chez l'homme, dans le cadre d'études menées en procréation médicalement assistée (PMA), il est montré que le tabagisme des deux conjoints entraîne une diminution de plus de 40 % des chances en PMA, et un taux d'échec en ICSI *(intracytoplasmic sperm injection)* 3 fois plus élevé chez les fumeurs. De plus le risque de ne pas aboutir à une grossesse en FIV (fécondation *in vitro*)/ICSI est 4 fois plus élevé chez les fumeurs fumant depuis de plus de 5 ans.

Âge, fertilité et durée d'exposition aux toxiques

Les premiers facteurs d'infertilité en France sont l'âge avancé (figure 14.1) ou le déplacement de l'âge pour l'obtention du premier enfant et l'exposition aux toxiques.

Mais l'on constate aussi que les femmes nées entre 1975 et 1982 présentent des dysménorrhées plus sévères que celles nées en 1972 et 1962 [10].

L'augmentation de l'endométriose, bien que reconnue [11], reste sous-estimée : absence de reconnaissance de la douleur des règles, dyspareunie, troubles digestifs, atteintes de la qualité de vie des femmes et des couples.

Les associations endométriose–thyroïdite auto-immune ne sont pas rares, mais le lien entre le deux n'a pas été confirmé : nous observons la présence des anticorps antithyroïdiens sans modification de la TSH *(thyroid stimulating hormone)*.

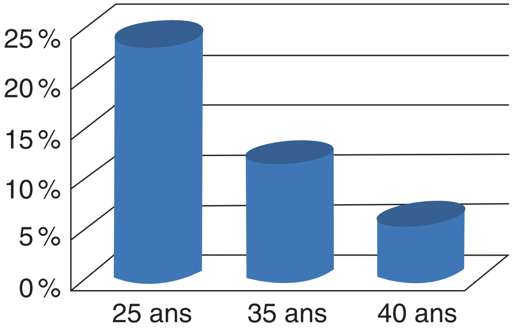


Figure 14.1 Âge et fertilité : fertilité naturelle par cycle.

Profession, stress et fertilité

Le stress au travail peut aussi être considéré comme un facteur toxique s'additionnant aux modes de vie et au stress lié à l'infertilité.

Environ 30 % des professions seraient plus exposées aux facteurs toxiques : infirmières, aides-soignantes, femmes de ménage, techniciennes de laboratoire, professionnels de la coiffure/esthétique (cohorte Pélagie).

Surpoids, obésité et fertilité

L'obésité a augmenté de 11 % depuis 2006 et de 50 % depuis 2000 chez les femmes en âge de procréer. La fécondabilité (probabilité de concevoir une grossesse pour un cycle donné) est réduite de 8 % en présence de surpoids et de 18 % en cas d'obésité [12].

Le risque de fausse couche est accru lorsque le poids augmente : 38 % chez les femmes obèses. La réduction pondérale est susceptible de réduire le taux de FCS.

Par ailleurs, un poids élevé augmente le risque d'hypertension artérielle et de diabète durant la grossesse : 20 % pour l'obésité et 7 % pour le surpoids. Le risque de malformation est accru. Le taux de césariennes atteint 45 % lorsque le poids est élevé, le risque ne semble pas lié au poids de l'enfant.

Chez l'homme, de plus en plus de donnés indiquent que surpoids et obésité affectent le spermogramme, la mobilité et l'ADN spermatique. Une récente étude de méta-analyse montre un lien dose–effet entre l'index de masse corporelle (IMC) et les anomalies du spermogramme.

En AMP, dans ces cas les chances d'accouchement après FIV/ICSI diminueraient de 35 % par rapport aux hommes de poids normal.

Reste à évaluer l'impact de la fécondabilité et les résultats en AMP lorsque les deux membres du couple présentent un surpoids et/ou obésité.

Observatoire national sur la qualité de vie et les facteurs toxiques [13]

Une première enquête nationale française a été menée sur les modes de vie et les facteurs toxiques chez les couples infertiles[1].

[1] S. Alvarez pour PROCREANAT et E. Devouche pour la faculté Paris V-Descartes, unité de recherche en psychiatrie et psychopathologie, EPS Erasme.

L'enquête prospective a permis de recueillir les réponses de 348 couples venus consulter en centre d'AMP, dans 43 départements de France métropolitaine.

Les rapports sexuels la plupart du temps sont focalisés et ils sont en moyenne de 2,14 par semaine ± 1,1 (étendue 0–7).

Si une femme sur huit déclare avoir des problèmes lors des rapports, ils ne sont que deux hommes sur 100 à se plaindre ($p < 0,001$).

Les problèmes les plus cités par les femmes sont les douleurs, l'insensibilité et les saignements. Les femmes déclarant des problèmes lors des rapports sexuels ont une plus grande probabilité d'être en couple avec un homme qui en déclare aussi ($p = 0,27$).

Les habitudes et mode de vie montrent un peu plus d'intoxication chez les hommes que chez les femmes :

- tabac : 52 % *versus* 40 % ($p < 0,0005$) ;
- cannabis : 13,5 % *versus* 6,9 % ($p < 0,005$) ;
- alcool : 32 % *versus* 23 % ($p < 0,0005$).

Les femmes consommatrices de tabac, de cannabis ou d'alcool ont plus de chance d'être en couple avec un homme présentant la même addiction ($p < 0,005$ quelle que soit l'addiction).

Les cycles menstruels sont indiqués en moyenne de 29,4 jours ± 7,2 (étendue 20–90 jours), avec une durée de règles de 5 jours ± 1,5 (étendue 2–13) ; 50 % des femmes interrogées déclarent des règles douloureuses.

Le stress est reconnu de façon égale par les hommes et les femmes, qu'il soit au travail (43 % *versus* 41 %) ou familial (12 % *versus* 14 %).

Cependant les femmes déclarant ressentir du stress familial ont une probabilité plus grande de vivre en couple avec un homme déclarant lui aussi du stress familial ($p < 0,0001$).

Une femme sur deux est stressée par l'infertilité, contre seulement un homme sur quatre (53 % *versus* 23 %, $p < 0,0001$).

Si l'on considère simultanément les 16 facteurs étudiés et qu'on calcule un score sur 16 en attribuant 1 point par facteur de risque présent, on observe que l'absence totale de facteurs de risque est très rare : 1,4 % des femmes et 2,3 % des hommes.

Le cumul est plus important chez les femmes, que ce soit pour quatre facteurs (65 % *versus* 58 %) ou pour sept facteurs (20 % *versus* 12 %).

En moyenne, les femmes présentent 4,60 ± 2,3 (étendue 0–11) facteurs de risque, alors que les hommes en présentent 4,03 ± 2,1 (étendue 0–12), et cette différence est significative ($p < 0,001$).

Les couples ayant au moins quatre facteurs négatifs voient le délai de conception augmenté de 7 par rapport à ceux qui n'en ont pas [14].

En effet, on ne doit pas considérer seulement la présence d'un seul facteur gonadotoxique, sinon le cumul des facteurs, afin d'évaluer correctement l'incidence sur l'infertilité et ainsi les modifier pour améliorer la fécondité naturelle.

Comment dépister ? Comment prévenir ?

Prévention primaire

Lors de la consultation préconceptionnelle (recommandation de la Haute Autorité de santé ou HAS) ou de gynécologie et contraception :

- aborder les sujets les plus présents habituellement :
  - tabac, alcool, cannabis,
  - poids et troubles alimentaires,
  - dépistage d'une dysménorrhée primaire ;
- informer sur l'âge et la diminution de la fécondité.

L'information lors de la consultation d'obstétrique est nécessaire afin de conseiller les femmes enceintes sur l'utilisation des produits susceptibles d'être gonadotoxiques pour le fœtus : professions, produits ménagers, tabac, alcool, produits cosmétiques, nutrition.

Prévention secondaire

En AMP, elle se fait en dépistant les facteurs toxiques et les anomalies de qualité de vie du couple (tableau 14.1).

En effet, la présence des facteurs toxiques diminue les chances de succès et a une incidence sur l'évolution des grossesses (diminuer le taux de fausses couches spontanées).

Développer une prise en charge globale du stress, de l'alimentation et de la diminution des facteurs toxiques, avec l'aide de l'homéopathie et de l'acupuncture et autres médecines alternatives, permettrait d'améliorer les résultats.

Tableau 14.1 Fiche écrite par le couple pour le dépistage des facteurs toxiques.

Femme	Homme
Profession	Profession
Poids	Poids
Taille, IMC	Taille IMC
Tabac, alcool, cannabis, médicaments, café	Tabac, alcool, cannabis, médicaments, café
Antécédents familiaux	Antécédents familiaux
Stress au travail	Stress au travail
Habitudes alimentaires	Habitudes alimentaires
Sport	Sport
Troubles alimentaires à l'adolescence	Sommeil
Sommeil	Bains chauds
Rapports sexuels du couple	Stress au travail
Médicaments anti-chute de cheveux	Stress infertilité
Stress au travail	Stress familial
Stress infertilité	
Stress familial	
Fréquence des rapports	
Durée des cycles	
Présence ou pas de douleurs des règles	

Corriger les facteurs qui diminuent la fécondabilité augmente les chances de grossesse spontanée et les taux de succès des traitements.

Résultats de la correction du tabagisme dans notre série personnelle [15]

- Amélioration de la réserve ovarienne dans 30 % des cas chez les femmes de moins de 40 ans après 3 mois d'arrêt du tabac.
- Amélioration des paramètres spermatiques dans 25 % des cas, avec augmentation du nombre de spermatozoïdes.
- Diminution du taux de fausses couches spontanées de 25 à 9 %.
- Quand la prise en charge tabagique a été réalisée chez le couple sans autre facteur d'infertilité (infertilités « dites idiopathiques »), 35 % de grossesses spontanées ont été obtenues 6 mois après la prise en charge et en dehors de toute technique d'AMP.

Conclusion

Développer la prévention de l'infertilité est nécessaire, elle se fait au travers d'un programme de prise en charge globale au sein des équipes d'AMP.

De nos jours, il est capital de :

- placer l'assistance médicale à la procréation dans un cadre préventif permettant :
  - d'améliorer les pratiques,
  - l'obtention des grossesses spontanées ;
- développer la prévention primaire afin de préserver la fertilité future à travers une consultation préconceptionnelle et lors de la grossesse dédiée à cet objectif avec la participation des médecins traitants, gynécologues, obstétriciens.

Une information éclairée est nécessaire précocement afin de préserver la fertilité ultérieure.

Références

[1] Jensen TK, Jorgensen N, Punab M, et al. Association of in utero exposure to maternal smoking with reduced semen quality and testis size in adulthood : a cross-sectional study of 1,770 young men from the general population in five European countries. Am J Epidemiol 2004 ; 159 : 49–58.

[2] Hull MG, North K, Taylor H, et al. Delayed conception and active and passive smoking. The Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood Study Team. Fertil Steril 2000 ; 74 : 725–33.

[3] Thorup J, Cortes D, Petersen BL. The incidence of bilateral cryptorchidism is increased and the fertility potential is reduced in sons born to mothers who have smoked during pregnancy. J Urol 2006 ; 176 : 734–7.

[4] Chavatte-Palmer P, Al Gubory K, Picone O, Heyman Y. Maternal nutrition : effects on offspring fertility and importance of the periconceptional period on long-term development. Gynecol Obstet Fertil 2008 ; 36 : 920–9.

[5] Amory JK, Swerdloff RS. The effect of 5 alpha-reductase inhibitions with du- tasteride and finasteride on semen parameters and serum hormones in healthy men. J Clin Endocrinol Metab 2007 ; 92 : 1659–65.

[6] Emanuele MA, Emanuele N. Alcohol and the male reproductive system. Alcohol Res Health 2001 ; 25 : 282–7.

[7] Meltzer H, Bastani B, Jayathilake K. Fluotexine but not tricyclic antidepressants, potentiates the 5-hydroxytryptophan–mediated increase in plasma cortisol and prolactin secretion in subjects with major depression or with obsessive disorder. Neuropsychopharmacology 1997 ; 17 : 1–11.

[8] Homan GF, Davies M, Norman R. The impact of lifestyle factors on reproductive performance in the general population and those undergoing infertility treatment : a review. Human Reprod Update 2007 ; 13 : 209–23.

[9] Alvarez S, Devouche E. First French national survey on lifestyle and toxic factors in infertile couples. Gynecol Obstet Fertil 2012 ; 40 : 765–71.

[10] Lindh I, Ellström AA, Milsom I. The effect of combined oral contraceptives and age on dysmenorrhoea : an epidemiological study. Human Reprod 2012 ; 27 : 676–82.

[11] Ballester M, Dehan P, Béliard A, et al. Role of genetic and environmental factors in the development of endometriosis. Rev Med Liege 2012 ; 67 : 374–80.

[12] Geslink Law DC, Maclehose RF, Longnecker MP. Obesity and time to pregnancy. Human Reprod 2007 ; 22 : 414–20.

[13] Alvarez S. Do some addictions interfere with fertility ? Fertil Steril 2015 ; 103 : 22–6.

[14] Hassan MA, Killick SR. Negative lifestyle is associated with a significant reduction in fecundity. Fertil Steril 2004 ; 81 : 384–92.

[15] Alvarez S. Role of toxic factors in the fecundity of the couple. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2010 ; 39 : 39–40.

Comment établir un pronostic sur les chances de grossesse du couple infertile ?

Chapitre 15

J.-L. Pouly, C. Chauffour, L. Janny, F. Brugnon,
L. Dejou-Bouillet, A.-S. Gremeau, S. Mestres

Nombre de couples consultant pour infertilité pose cette question : « Quelles sont nos chances ? » On pourrait discuter longtemps sur les motivations de cette demande qui cache des problématiques bien différentes. Aujourd'hui, l'imprévu est de plus en plus mal accepté et se lancer dans une démarche sans en savoir l'issue est tout simplement insupportable pour beaucoup, d'où la nécessité d'un chiffre auquel se rattacher. Pour d'autres, ce pronostic sera mis en balance avec les contraintes afin de décider jusqu'où aller. C'est particulièrement le cas chez les couples ayant déjà des enfants. Mais il existe d'autres motivations que nous ne percevons pas toujours.

Une chose est pourtant sûre : malgré l'accessibilité à une foule de données, la plupart des couples surestiment leur chance.

En tout cas le médecin se doit de répondre de façon honnête et objective, autant qu'il le peut. Ce sera quelquefois un choc brutal pour le couple, mais cette attitude de vérité évitera bien des incompréhensions dans la suite de la prise en charge.

Épidémiologie des résultats des traitements

Le traitement de l'infertilité relève de thérapies classiques et des techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP). Mais il faut souligner d'emblée quatre points :

- ces traitements peuvent être complémentaires surtout de façon séquentielle ;
- autant les résultats de l'AMP sont bien connus autant ceux des autres techniques sont souvent opaques ;
- la manière d'exprimer les résultats est globalement différente. En AMP, le résultat le plus classique se fait par tentative ou par cumul des tentatives. Hors AMP, il s'agit plus souvent de résultats évalués sur des délais ;
- enfin, il n'est pas inutile de rappeler que pour le couple, la chance de grossesse est en fait la chance d'avoir un enfant… ou plusieurs.

Hors AMP

Après traitement chirurgical

L'expression des résultats se fait sous la forme d'un taux après un certain délai. Mais plusieurs méthodes existent pour prendre en compte les perdues de vue.

Les taux bruts sont le rapport entre le nombre de patientes enceintes et le nombre de patientes totales. Il est très juste sur les premiers mois et un peu pessimiste à long terme du fait des patientes perdues de vue et possiblement enceintes.

Les taux actuariels sont le ratio des patientes enceintes sur le nombre de patientes suivies au délai donné. Dans ce taux, les patientes perdues

de vue sont considérées comme ayant le même pronostic que les patientes suivies. Ce taux tend à surévaluer les taux de grossesses d'autant plus que le suivi est long et le nombre de perdues de vue élevé. En outre, il convient de bien différencier les taux de grossesses et d'accouchements.

Une revue de la littérature montre que très peu de séries dépassent 500 cas et beaucoup sont très en dessous, ce qui amène à un grand intervalle de confiance dans les résultats.

Enfin, il existe un doute quant à la représentativité des résultats, car les meilleures séries sont plus facilement publiées que les mauvaises qui restent souvent dans les tiroirs.

Après traitement médical

Il s'agit principalement de stimulation de l'ovulation avec des traitements répétitifs sur plusieurs cycles. La plupart des résultats sont exprimés en taux cumulatifs sur trois ou six cycles.

Les mêmes critiques peuvent être faites sur la validité de ces publications.

En AMP

Malgré toutes les critiques qui ont pu être faites à ce secteur, aujourd'hui la transparence des résultats y est très importante principalement du fait des registres nationaux. Ils ont en outre l'avantage de colliger des nombres de cas énormes qui rendent les résultats beaucoup plus précis. Reste à interpréter les chiffres.

Nous ne rentrerons pas dans le détail mais plusieurs points méritent d'être soulignés.

Les résultats doivent être lus en accouchement idéalement par stimulation et à défaut par ponction. Les taux de grossesses doivent être abandonnés.

Le résultat d'une tentative de FIV (fécondation *in vitro*) ou d'ICSI *(intracytoplasmic sperm injection)* est un taux cumulé qui prend en compte les accouchements obtenus après transfert d'embryons frais et après transfert d'embryons décongelés.

Enfin, il faut tenir compte des taux cumulatifs après *n* tentatives [1]. Ils peuvent être exprimés :

- en taux bruts considérant que les patientes perdues de vue ne sont pas enceintes ;
- en taux actuariels considérant que les femmes perdues de vue auraient eu le même pronostic si elles avaient poursuivi. Mais c'est oublier un peu vite que l'AMP est stressante, que les abandons sont loin d'être rares et que finalement peu importe si une patiente a abandonné pour de bonnes ou de mauvaises raisons dès lors qu'elle n'a pas atteint son objectif : avoir un enfant.

Toutes les séries de taux cumulatifs arrivent à des taux bruts entre 40 et 55 % d'accouchements à quatre cycles dans la population générale et entre 60 et 80 % en taux actuariels. En marge de ces grossesses, 6 à 8 % des patientes seront enceintes de façon naturelle.

Facteurs affectant les résultats des traitements

Âge féminin

C'est l'élément majeur connu depuis fort longtemps.

Pour les traitements hors AMP, les données sont souvent faibles car beaucoup de séries éliminent les patientes au-delà de 37 ans, ou bien le nombre de cas est insuffisant pour atteindre une différence significative. Ainsi dans la série d'Audebert [2] sur les néostomies, le taux d'accouchements est de 30,6 % avant 35 ans, 27,2 % entre 35 et 39 ans et 13 % au-delà. Cette différence pour les femmes au-delà de 40 ans apparaît non significative mais simplement par manque de puissance. Or cette série récente est une des plus longues jamais publiées. Pour l'endométriose, les résultats vont dans le même sens et d'ailleurs Adamson [3] a inclus l'âge, comme un facteur majeur du taux de succès de la chirurgie, dans son EFI *(endometriosis infertility index)*.

En AMP et particulièrement en FIV/ICSI, les données sont plus étayées et nombreuses. La figure 15.1 montre les taux de succès relevés dans le registre américain du SART en 2011 [4]. L'effondrement des résultats au-delà de 35 ans est considérable pour aboutir à un pronostic sensiblement nul vers 43 ans.

Les taux cumulatifs bruts ou actuariels de FIV montrent le résultat après *n* ponctions possibles rendant compte à la fois des résultats par tentative mais aussi du phénomène abandon ou éviction. Dans notre étude [5], rapportée au tableau 15.1, on retrouve le même phénomène encore accentué par des taux d'abandons qui augmente avec l'âge.

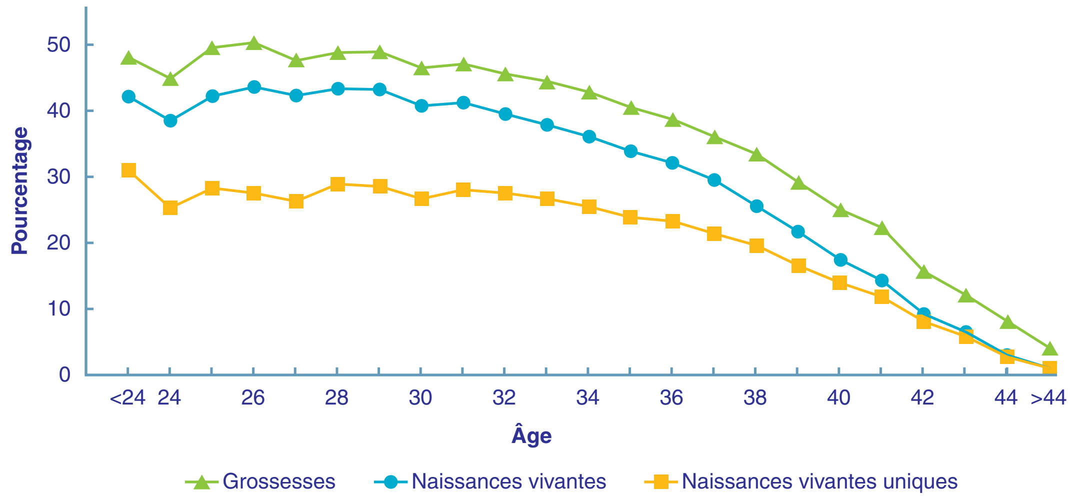


Figure 15.1 **Taux de grossesse et d'accouchement selon le SART en 2011 en fonction de l'âge de la femme.**
Source : Report SART 2011. En ligne : http://www.advancedfertility.com/ivf-age.htm

Tableau 15.1 **Taux cumulatif théorique et réel d'accouchement (après quatre tentatives) et taux d'abandon après trois cycles selon la classe d'âge.**

Classe d'âge	Effectif	Taux théorique	p	Taux réel	p	Taux d'abandon	p
Moins de 25 ans	36	70,89 %	< 0,001	61,11 %	< 0,001	60,00 %	< 0,005
25–30 ans	235	69,92 %		57,02 %		68,22 %	
30–35 ans	381	67,45 %		50,13 %		74,87 %	
35–38 ans	180	56,26 %		38,88 %		68,90 %	
38–40 ans	94	34,89 %		18,08 %		81,25 %	
40–42 ans	53	27,50 %		16,98 %		97,72 %	
42 et plus	22	4,54 %		4,54 %		100,00 %	

Âge masculin

Plusieurs publications ont montré un impact de l'âge sur les résultats de l'AMP [6]. Mais cet impact est tout à fait modeste et n'intervient que pour des âges au-delà de 55 ans. De plus, les études qui se sont intéressées à ce facteur en éliminant le facteur féminin par le recours au don d'ovocytes ne trouvent pas de différences [7]. En conséquence, sa prise en compte ne doit intervenir que pour des âges masculins très élevés et son impact est modeste en comparaison de l'impact de l'âge féminin.

Pour les traitements hors AMP, aucune donnée n'est disponible.

Rang de la tentative

Toutes les études vont dans le même sens, les chances d'accouchement diminuent d'une tentative sur l'autre d'environ 10 à 15 % [8].

Antécédents de grossesse

Les antécédents de grossesse intra-utérine et d'accouchement ont largement été démontrés comme des facteurs favorables de succès en AMP [8].

Pour les traitements chirurgicaux, il en est de même. Cependant les antécédents de grossesse extra-utérine (GEU) sont au contraire un facteur négatif de succès des plasties tubaires [2].

Globalement, dans toutes les études, le fait d'avoir accouché augmente la probabilité de succès par un facteur 1,25.

Enfin, le fait d'avoir déjà accouché grâce à une AMP augmente de façon majeure les chances de succès d'une nouvelle AMP par un facteur compris entre 1,5 et 2.

Cause de l'infertilité et/ou indication de l'AMP

Hors AMP

Nous ne ferons pas là un catalogue exhaustif de toutes les chances de grossesse selon les traitements, mais nous rappellerons simplement que les taux de grossesses espérés après techniques chirurgicales sont souvent plus faibles que certains optimistes publiés dans la littérature. Que penser par exemple des taux de grossesses après traitement de nodules recto-vaginaux, quand Donnez [9] affiche 58 % d'accouchements sur une longue série personnelle, alors que Vercellini [10, 11] en cumulant les résultats de la littérature n'atteint que 32 % de grossesses ?

Globalement et sans tenir compte des stades ou classifications, il faut rester sur l'idée qu'une plastie tubaire offre de 20 à 25 % de taux d'accouchements, une chirurgie de l'endométriose entre 30 et 35 %, un *drilling* ovarien de l'ordre de 30 % [12].

En AMP

Il existe de nombreuses publications qui se sont intéressées aux chances d'accouchement en fonction de l'indication que ce soit par tentative ou lors d'analyse en taux cumulatifs [1, 5, 8, 13].

La seule difficulté d'interprétation peut survenir des classifications d'indications. Par exemple, certaines études mélangent, dans les indications ovulatoires, le syndrome des ovaires micropolykystiques (SOPK) et l'insuffisance ovarienne prématurée (IOP). Est-ce qu'une endométriose extensive avec atteinte tubaire doit être classée en indication tubaire ou en indication endométriose ?

Ces réserves étant faites, les conclusions de ces études sont globalement les suivantes [5] :

- les résultats les meilleurs sont retrouvés dans les indications masculines et les SOPK ;
- les plus mauvais sont retrouvés dans les stérilités tubaires ;
- pour les autres indications le résultat est intermédiaire ;
- mais, surtout, il apparaît que l'impact de l'indication reste faible et en tout cas très inférieur à celui de l'âge.

Réserve ovarienne

C'est un sujet très à la mode avec des avis divergents du fait de deux problèmes. La réserve ovarienne baisse avec l'âge d'une part et les moyens de l'apprécier sont assez grossiers d'autre part. Aussi les publications sont assez divergentes entre ceux qui ne trouvent que peu de valeur prédictive à l'AMH (*anti-mullerian hormone)* [14] ou au compte folliculaire antral [15] et ceux qui au contraire y voit des indicateurs pronostiques forts [15–17]. Dans l'étude sur les taux cumulatifs que nous avons faite [5], une faible réponse ovarienne avait clairement un impact sur les taux bruts et actuariels d'accouchement après quatre tentatives. Mais surtout cet impact tend à s'accentuer avec l'âge (tableau 15.2) rendant la situation dramatique pour les très mauvaises répondeuses à partir de l'âge de 35 ans, mais aussi pour les répondeuses médiocres à partir de 38 ans.

Origine du sperme

En AMP, il a été bien montré que les meilleurs résultats sont obtenus avec sperme de donneur ou sperme épididymaire avec une chance de grossesse augmentée d'un facteur 1,1 à 1,2.

Avec sperme testiculaire, les résultats sont plus bas avec des chances de grossesse de 0,8 par rapport à du sperme éjaculé.

Pathologies utérines

Toutes les pathologies utérines ont un impact sur les résultats tant après chirurgie, qu'après stimulation en AMP. Mais les données chiffrées sont rares et disparates comme le sont les pathologies qu'ils s'agissent des fibromes [18], des polypes ou des synéchies. Quant aux malformations utérines, elles ont un impact également négatif mais il est difficile de donner un chiffre.

Les rares certitudes en la matière sont qu'après myomectomie, les taux de succès reviennent à la normale [18] comme après résection de cloison utérine.

Tableau 15.2 Taux cumulatif actuariel et brut d'accouchement (après quatre tentatives) en fonction de l'âge et de la réponse ovarienne lors du premier cycle.

Âge	Réponse	Nombre	Taux actuariel	p	Taux brut	p	Déficit relatif en taux brut
< 35 ans	0–4 ovo	147	58,46 %	< 0,0001	44,89 %	< 0,001	23,70 %
	5–8 ovo	212	69,01 %	0,054	54,24 %	0,066	7,90 %
	9 et plus	279	73,50 %		58,90 %		
35 à 38 ans	0–4 ovo	71	43,62 %	< 0,02	28,57 %	0,006	45,0 %
	5–8 ovo	52	63,55 %	ns	45,65 %	ns	12,08 %
	9 et plus	46	67,77 %		51,92 %		
> 38 ans	0–4 ovo	85	11,26 %		8,23 %	< 0,001	74,49 %
	5–8 ovo	53	39,32 %	P = ns	18,86 %	0,17	41,54 %
	9 et plus	31	38,21 %		32,26 %		

ovo : ovocyte.

Quant à l'adénomyose, les données vont vers une réduction des chances de grossesse et une augmentation du risque de fausses couches mais avec une grande hétérogénéité dans les études [10, 11].

Comportement du couple

Le comportement des couples est un facteur non négligeable [19, 20].

Lors de traitement chirurgical, l'impact est faible dès lors qu'il y a des rapports.

Par contre en AMP, le taux d'abandons sans raison est un élément majeur du pronostic qui explique une différence de 20 % dans le résultat final selon que l'on mesure en taux actuariels ou en taux bruts [1, 5]. Prévoir à l'avance ce comportement n'est pas toujours facile, mais il doit être expliqué aux couples que c'est la répétition des tentatives qui augmentent le plus leur chance.

Alternatives

On ne peut parler de pronostic sans évoquer les alternatives.

Prenons deux exemples :

- une femme de 42 ans présentant une mauvaise réserve ovarienne et un problème d'obstruction tubaire, mais sans autre facteur négatif. Elle a une probabilité d'accouchement de moins de 5 % par tentative en intra-couple et de moins de 10 % en taux cumulatifs bruts à quatre cycles. La même femme aura 40 % de chance d'accoucher en une tentative de don d'ovocytes ;
- un couple dont la femme et l'homme ont chacun 40 ans présente une infertilité. Le bilan conclut à une azoospermie non obstructive. La patiente a une réserve ovarienne moyenne. La probabilité de trouver des spermatozoïdes à la ponction testiculaire est de 40 %. Si elle est positive, le taux d'accouchements en ICSI exprimé en cumulatif brut après quatre cycles est de 18 % qu'il faut corriger de l'utilisation de sperme testiculaire soit finalement 15 %. Donc dès le départ, les chances de succès peuvent être évaluées globalement à 6 % (40 % × 20 %) ! À ce niveau, envisager le recours aux inséminations avec don de sperme est indispensable car les chances cumulées en six inséminations seront de l'ordre de 30 à 40 % avec une contrainte infiniment moindre.

À travers ces deux exemples, nous voulons simplement montrer que cette information sur les chances ne peut plus aller sans une information sur les alternatives qui peuvent s'avérer beaucoup plus efficaces, moins stressantes même si elles soulèvent des problèmes éthiques et psychologiques.

Comment chiffrer un pronostic

Finalement, cette approche d'un pronostic est possible, même si certains paramètres sont subjectifs.

Pour l'AMP

Il existe deux solutions : le recours aux logiciels ou des calculs empiriques.

Recours aux logiciels pour la part AMP

Les logiciels d'AMP comme INFOFIV (et à moindre degré MEDIFIRST) incluent des modules de statistiques qui peuvent :

- évaluer, sur l'historique du centre, les chances de grossesse en AMP en fonction de l'âge, du rang de la tentative, de l'indication, de l'origine du sperme ;
- évaluer la réponse en nombre d'ovocytes attendue à la stimulation ;
- donner les taux de grossesses, d'accouchements et de congélation.

Le risque de cette méthode tient à l'interprétation sur de très petites séries avec des intervalles de confiance très grands.

Évaluation empirique

Elle peut être faite en utilisant le tableau 15.3.

Elle donne une idée relativement réaliste des chances d'accouchement en embryons frais + congelés par tentative en multipliant

Tableau 15.3 Tableau permettant l'évaluation des chances de succès d'une patiente en FIV sur le prochain cycle et sur quatre cycles avant la première tentative.

Résultat moyen du centre en accouchements embryons frais + congelés :			A =	
Facteur de correction	Arguments	Indice de correction		Taux de correction
Âge	< 35	1,2	B =	
	35–37	1		
	38–39	0,8		
	40–41	0,5		
	42 et plus	0,2		
Rang de tentative	1	1,1	C =	
	2	1		
	3	0,85		
	4	0,7		
	5 ET PLUS	0,6		
Ovocytes escomptés	1 à 4	0,3	D =	
	5 à 8	0,8		
	9 et plus	1,1		
Fibromes	Non	1	E =	
	Près de la cavité	0,8		
	Déformant la cavité	0.5		
Malformation utérine ou antécédents de synéchies ou adénomyose	Oui	0,7	F =	
	Non	1		
Sperme	Donneur	1,2	G =	
	Épididymaire	1,1		
	Testiculaire	0,8		
	Éjaculat	1		

Indication	Tubaire	0,9	H =	
	Masculine	1,1		
	Endométriose	1,1		
	Ovulatoire sauf IOP	1,2		
	Inexpliquée	1		
Antécédents d'accouchement	Hors FIV	1,25	I =	
	En FIV	1,5		
	Non	0.9		
Facteur global de correction X = B × C × D × E × F × G × H × I				
Pronostic d'accouchement sur la prochaine FIV		1	T = A × X	
Pronostic d'accouchement sur 4 FIV (avant la première)		1,8	TC = T × 1,8	

FIV : fécondation *in vitro*; IOP : insuffisance ovarienne prématurée; T : taux d'accouchements avec embryons frais + congelés sur première tentative; TC : taux d'accouchement cumulatifs sur quatre tentatives potentielles.

Tableau 15.4 Tableau permettant l'évaluation des chances de succès d'une patiente hors FIV suite à une chirurgie de l'infertilité ou à une stimulation de l'ovulation.

Actes ou traitement	Taux de succès de base	Ratio en cas d'intervention multiple
Fimbrioplastie	60 %	
Néostomie stade 1 et 2	40 %	
Néostomie stade 3 et 4	10 %	
Adhésiolyse sauf sévère	60 %	
Adhésiolyse sévère	20 %	
Endométriose stade 1 ou 2	40 %	
Endométriose stade 3 ou 4	30 %	
Synéchies légères	90 %	
Synéchies modérées	70 %	
Synéchies sévères	30 %	
Myomectomie interstitielle	70 %	
Myomectomie sous-muqueuse	90 %	
Drilling	35 %	
Stimulation en FSH (6 cycles)	50 %	
Correctif issu du tableau 15.3 X =		

le résultat moyen du centre par les différents facteurs de correction et elle procure une estimation du pronostic à quatre FIV en taux cumulatifs bruts (c'est-à-dire en intégrant les comportements des patientes et donc la probabilité d'abandon).

Hors AMP

Pour les traitements hors FIV, le plus logique est de calculer un facteur de correction du même type et de l'appliquer en correctif des taux moyens donnés au tableau 15.4 en fonction des types de traitements.

Conclusion

Donner un pronostic avant la prise en charge en infertilité est un élément important de l'information médicale. Cette évaluation est possible de façon assez fine mais doit être expliquée aux couples afin qu'ils intègrent les concepts de délais après la chirurgie ou la nécessité de savoir persévérer même après un premier échec en AMP.

Références

[1] Daya S. Life table (survival) analysis to generate cumulative pregnancy rates in assisted reproduction : are we overestimating our success rates ? Hum Reprod 2005 ; 20 : 1135–43.

[2] Audebert A, et al. Laparoscopic surgery for distal tubal occlusions : lessons learned from a historical series of 434 cases. Fertil Steril 2014 ; 102 : 1203–8.

[3] Adamson GD, et al. Endometriosis fertility index : the new, validated endometriosis staging system. Fertil Steril 2010 ; 94 : 1609–15.

[4] Report SART 2011. En ligne : http://www.advancedfertility.com/ivf-age.htm.

[5] Pouly JL, et al. Factors affecting the cumulative live birth rate in IVF cycles. Retrospective analysis of a 1001 couples cohort. Gynecol Obstet Fertil 2012 ; 40 : 219–25.

[6] De la Rochebrochard E, et al. Paternal age over 40 years : an important risk factor for infertility. Am J Obstet Gynecol 2003 ; 189 : 901–5.

[7] Whitcomb BW, et al. Contribution of male age to outcomes in assisted reproductive technologies. Fertil Steril 2011 ; 95 : 147–51.

[8] Troude P, et al. Joint modeling of success and treatment discontinuation in in vitro fertilization programs : a retrospective cohort study. BMC Pregnancy Childbirth 2012 ; 12 : 77.

[9] Donnez J, et al. Complications, pregnancy and recurrence in a prospective series of 500 patients operated on by the shaving technique for deep rectovaginal endometriotic nodules. Hum Reprod 2010 ; 25 : 1949–58.

[10] Vercellini P, et al. Adenomyosis and reproductive performance after surgery for rectovaginal and colorectal endometriosis : a systematic review and meta-analysis. Reprod Biomed Online 2014 ; 28 : 704–13.

[11] Vercellini P, et al. Uterine adenomyosis and in vitro fertilization outcome : a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod 2014 ; 29 : 964–77.

[12] Fernandez H, et al. Ovarian drilling for surgical treatment of polycystic ovarian syndrome : a comprehensive review. Reprod Biomed Online 2011 ; 6 : 556–68.

[13] Witsenburg C, et al. Cumulative live birth rates in cohorts of patients treated with in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 2005 ; 84 : 99–107.

[14] Lamazou F, et al. Serum AMH level is not a predictive value for IVF in modified natural cycle : analysis of 342 cycles. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2011 ; 40 : 205–10.

[15] Jayaprakasan K, et al. Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle count thresholds in a prospective cohort of 1,012 women. Fertil Steril 2012 ; 98 : 657–63.

[16] Lukaszuk K, et al. Anti-Mullerian hormone (AMH) is a strong predictor of live birth in women undergoing assisted reproductive technology. Reprod Biol 2014 ; 14 : 176–81.

[17] Dewailly D, et al. The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women. Hum Reprod Update 2014 ; 20 : 370–85.

[18] Pritts EA, et al. Fibroids and infertility : an updated systematic review of the evidence. Fertil Steril 2009 ; 91 : 1215–23.

[19] Boivin J, et al. Stress levels across stages of in vitro fertilization in subsequently pregnant and non pregnant women. Fertil Steril 1995 ; 64 : 802–10.

[20] Troude P, et al. Medical factors associated with early IVF discontinuation. Reprod Biomed Online 2014 ; 28 : 321–9.

La consultation d'éthique et l'infertilité

P. Atlan

Il peut être ressenti comme singulier de mêler éthique et infertilité si l'on considère l'éthique comme morale ou uniquement morale. Or l'éthique est avant tout un questionnement, une responsabilité.

L'infertilité est définie comme la difficulté confinant parfois à l'impossibilité de procréer et l'on comprend bien les questionnements à ce sujet pour un individu par rapport à lui-même, à son conjoint, à sa famille et la responsabilité (c'est-à-dire au sens étymologique les réponses) de la médecine, de la société (l'infertilité est-elle une maladie ?) et du droit.

De plus, il est indispensable de souligner que si l'infertilité est une histoire personnelle, elle est aussi une problématique conjugale et qu'enfin sa résolution permet la création d'un embryon dont le statut, par les modalités de cette conception, sera à prendre en compte.

Mais de quoi veux-je m'entretenir, bien évidemment non pas des indications des procréations médicalement assistées (PMA), mais de leurs incidences philosophiques et éthiques.

Les techniques nouvelles d'assistance médicale à la procréation (AMP) ont permis à la médecine de la fin du XXe siècle et du début du XXIe siècle de toucher à ce qui paraissait immuable depuis le début de l'humanité – la façon de faire des enfants – grâce à l'intervention d'un tiers, le médecin.

En effet, dès lors qu'il est possible de procréer en changeant le lieu de fécondation, en utilisant les gamètes (ovule et spermatozoïde) hors de leur cheminement habituel, et dès lors qu'il est possible de congeler un embryon, on perçoit que la filiation et le temps n'ont plus le sens que nous leur accordions communément.

La technique de l'AMP est née du désir des médecins (s'inscrivant dans l'histoire de la modernité féminine) d'aider à suppléer les processus défaillants d'une procréation dite naturelle : la rencontre d'un ovule et d'un spermatozoïde par coït aboutissant à la création d'un embryon, rencontre harmonieuse des deux gamètes, à sa nidation et à son développement à l'intérieur de la cavité utérine.

Cette maîtrise des phénomènes de la reproduction, des sciences de la vie, si elle a permis une thérapeutique de certaines formes de stérilité, est en soi une source de questionnements immédiats et à venir. La médecine est aussi une lutte contre la nature. Mais là, quels sont les enjeux, quels sont les dangers, quelles sont les conséquences de ces actes médicaux en fait ?

Une des premières conséquences est une désexualisation de la procréation, ce qui est paradoxal dans une société qui parle beaucoup de sexualité et de sexualisation.

Mais l'enjeu essentiel porte sur la filiation : qu'en est-il de la filiation quand l'ovule, le spermatozoïde et l'utérus ne forment plus ensemble les trois côtés habituels du triangle maternel ? Qui est la mère ? l'ovarienne, la génétique, l'utérine ?

Qu'en est-il du temps, quand la congélation d'embryon permet la conservation d'un embryon en 2015, qui pourra être réimplanté dans un utérus d'une femme de 30 ans, dans 30 ans, femme née donc en même temps que cet embryon aura été créé ?

Et qu'en est-il de la filiation et du temps quand, par exemple, cet embryon pourrait être réimplanté chez sa sœur, sa mère, sa grand-mère ?

Enfin, le temps du fœtus peut s'arrêter par la décision de la parturiente en cas de découvertes de malformation ou de pathologie fœtale au diagnostic prénatal de plus en plus performant.

Le développement des sciences de la vie interpelle et interroge la conscience morale, il modifie les mœurs.

Les faits scientifiques peuvent-ils fonder nos choix éthiques ? La science n'est pas extérieure à la société, comme l'écrit Pierre Thuillier.

Et, évidemment, la société qui est la nôtre a des références philosophiques et religieuses qui l'influencent et qui permettent peut-être de comprendre la nécessité ou l'inutilité de légiférer, c'est-à-dire de permettre et d'interdire.

Quel est l'état des lieux ?

Les religions monothéistes

L'**Église catholique** a une attitude cohérente dans sa réflexion et ses interdictions. Ainsi, son refus de toute menace de la vie fait de l'embryon une « personne humaine », dès le premier instant de son existence, c'est-à-dire dès sa conception. La doctrine de l'Église catholique relative au mariage condamne, par conséquent, l'apport de gamètes étrangers au couple, et la dissociation acte sexuel procréation que constitue la fécondation *in vitro* (FIV) est également peu conseillée, même interdite par la hiérarchie catholique. Ainsi, l'instruction *Donum vitae* de la congrégation pour la doctrine de la foi (1987) indique que : « la fécondation est licitement voulue, quand elle est le terme d'un acte conjugal apte en soi à la génération auquel le mariage est destiné par sa nature et par lequel les époux deviennent une seule chair. Et la procréation est moralement privée de sa perfection propre quand elle n'est pas voulue comme le fruit de l'acte conjugal ».

Pour le **protestantisme**, la conduite est plus nuancée et se fonde sur deux critères (Jean-Arnold de Clermont, Fédération protestante de France) : le refus de la performance médicale (la médecine doit répondre à une souffrance) et le rejet d'une demande qui ne serait qu'au service du demandeur.

Le **judaïsme** pose lui la question de l'identité dont on sait que la filiation par la mère en est la condition essentielle, et donc le besoin de précisions quant à l'identité biologique de l'enfant à venir. L'intervention de gamètes extérieurs, mâles en particulier, au couple, même sans acte sexuel, est considérée comme un adultère et pose le problème de l'interdit fondamental pour le judaïsme : l'inceste. En effet, l'intervention d'un tiers pose la question de l'anonymat de ce tiers si l'on veut éviter le mariage ultérieur d'un frère avec sa sœur ou d'un père avec sa fille par exemple. Quant à la FIV dans un couple donné, elle est autorisée si toutes les précautions sont prises pour éviter et rejeter absolument toute tricherie (grand rabbin Emmanuel Chouchena, ancien directeur du Séminaire israélite de France). Néanmoins, la casuistique, l'étude du cas par cas, reste la règle.

Enfin, dans l'**islam**, la FIV, est autorisée à condition qu'elle ne se produise pas en dehors du mariage, et l'apport de gamètes extérieurs au couple est interdit.

Mise en place d'une consultation d'éthique pratique

La création du Comité consultatif national d'éthique en 1983 a permis une réflexion commune multidisciplinaire juridique et religieuse, notamment, à propos de l'éthique en réunissant des représentants de diverses spécialités scientifiques, philosophiques et des représentants des diverses religions de l'horizon spirituel de notre pays.

Il s'en est suivi des multiples rencontres, congrès et colloques ayant pour sujet le statut de l'embryon et les nouvelles techniques d'AMP qui révolutionnent le traitement de l'infertilité.

Ces considérations théoriques commandaient à mon sens d'être mises en pratique, car il fallait ne pas oublier et même privilégier le fait d'être un médecin, autrement dit un praticien, et ainsi de mettre au service des patients, des couples, les diverses réflexions et conclusions de ces rencontres et colloques. C'est pourquoi j'ai créé en 1996 à l'hôpital Antoine Béclère, dans le service dirigé à l'époque par René Frydman, une consultation d'éthique pratique et de face à face avec les représentants qualifiés des religions monothéistes de notre pays par ordre d'importance numérique par le nombre de fidèles : catholiques, musulmans, protestants, juifs.

Les débats nous permettent une confrontation des idées, un enrichissement intellectuel, mais qu'en est-il de notre pratique si nous ne mettons pas ces connaissances et ces conclusions à disposition de nos patients naturellement dans le cadre des lois de la République française ?

Exemples de situations rencontrées dans cette consultation d'éthique concernant l'infertilité

Âge

En France la prise en charge par l'assurance maladie des traitements de l'infertilité s'arrête à l'anniversaire des 43 ans de la femme, mais il se présente beaucoup de femmes qui désirent une grossesse au-delà de cet âge et se pose alors la question de la limite d'âge, même sans remboursement, pour tenter des traitements qui peuvent être plus ou moins dommageables. Bien évidemment la question de la préservation « sociale » de la fertilité féminine est à discuter grâce à la vitrification ovocytaire, en raison de l'âge repoussé pour une première grossesse. Enfin, il n'y a pas de limite d'âge officielle pour l'homme, c'est ainsi que nous avons eu, par exemple, un couple dont l'homme avait 73 ans et l'épouse 42 ans.

Problématique des investigations et des traitements proposés à une population à pratique religieuse orthodoxe (tableau 16.1)

Les problématiques sont nombreuses quels que soient les examens et traitements pratiqués :

- hystérosalpingographie et hystéroscopie : ces deux examens peuvent provoquer des saignements et ces saignements rendent la femme juive inapte aux rapports sexuels pendant les 7 jours qui suivent la fin de ces saignements ;
- spermogramme : la pratique du spermogramme obtenu après masturbation est impossible dans un nombre important de cas ;
- insémination avec sperme du conjoint : historiquement c'est la première AMP, éthiquement le questionnement prote sur l'obtention du sperme là encore après masturbation et absence de rapport sexuel pour l'obtention d'une grossesse. Elle pose également le problème de l'éventuel décès du conjoint après congélation de son sperme ;
- insémination avec sperme de donneur et don d'ovocytes : intervention de plusieurs « tiers » dans le processus, en plus du médecin, le donneur ou la donneuse. Problématique de l'anonymat ou de la connaissance des donneurs ? possibilité de filiation non génétique ? à réserver à des couples hétérosexuels exclusivement ? doit-on l'envisager pour des couples homosexuels ? hommes ou femmes ? des femmes seules ? des hommes ayant besoin de mère porteuse ? des femmes ménopausées ? Enfin pour le don d'ovocytes, quel est le risque inhérent des traitements médicaux chez la donneuse ?
- FIV : en plus de la désexualisation de la procréation et des risques de la médicalisation (hyperstimulation par exemple), elle pose la question de la création d'un embryon *in vitro*

Tableau 16.1 Religions monothéistes et AMP.

	Catholiques	Protestants	Juifs	Musulmans
Fécondation *in vitro*	Interdite en raison de la dissociation de la procréation et de la sexualité	Autorisée	Autorisée	Autorisée
Insémination avec sperme du conjoint	Interdite pour les mêmes raisons	Autorisée	Autorisée s'il n'y a pas d'autres possibilités	Autorisée s'il n'y a pas d'autres possibilités
Insémination avec sperme du donneur	Interdite pour les mêmes raisons avec en plus confusion dans la filiation	Autorisée par la majorité des églises protestantes	Interdite	Interdite
Don d'ovule	Interdit pour les mêmes raisons	Autorisé par la majorité des églises protestantes	Autorisé par la majorité des rabbins décisionnaires car la mère est celle qui accouche	Interdit

avec la considération de son statut, de son devenir en cas d'implantation différée et donc de congélation limitée (ou pas) dans le temps : conservation éternelle ? possibilité de destruction de ces embryons ? possibilité de recherche sur ces embryons ?
- diagnostic pré-implantatoire : il est indiqué chez des couples féconds porteurs de maladies génétiques à qui on propose une FIV pour ne transférer que des embryons sains. La discussion éthique porte sur le « tri » et le choix des indications des affections légitimes de ce tri ;
- bébé (médicament) du double espoir : il est créé par FIV pour être un donneur potentiel de cellules saines pour son frère ou sa sœur malade, avec la charge psychique que cela induit dans sa vie future.

Troubles psychiatriques et mise en route de traitements de l'infertilité

Il ne peut s'agir que d'une collaboration étroite avec le psychiatre pour mesurer au plus près les risques des traitements et ceux d'une paternité et d'une maternité.

Peut-on, et à partir de quelles règles éthiques, refuser une aide à la procréation à une femme, à un couple atteints de pathologie psychiatrique grave et dont on peut légitimement présumer (sur quels critères objectifs) qu'elle et/ou le couple ne seront pas en état d'élever son enfant, alors que l'on refuse à juste titre de stériliser celles et ceux dans la même situation psychiatrique qui pourraient enfanter naturellement ?

Peut-on aider un couple dont l'un ou les deux seraient atteints d'un handicap physique ?

On y répond positivement dans la mesure où les traitements et l'accouchement ne mettent pas en jeu la vie de la femme.

Peut-on pratiquer une aide médicale à la procréation chez une femme atteinte d'une grande obésité, doit-on le lui refuser ?

Seulement si l'on juge que cela mettra sa vie en danger. Là encore se rencontrent deux subjectivités, celle de la femme et celle du médecin qui lui devra être aidé par un staff multidisciplinaire.

Commercialisation de l'aide médicale à la procréation

La commercialisation de l'AMP pose enfin une problématique éthique fondamentale qui se construit parallèlement à la problématique d'être ou ne pas être un prestataire de service pour le gynécologue obstétricien. Historiquement, l'irruption de la contraception moderne hormonale et l'apparition des dispositifs intra-utérins dans les années 1960 ont révolutionné la pratique de notre spécialité en nous donnant le rôle de prestataire de service qui ne posait plus les indications d'une prescription médicale mais en vérifiait les contre-indications.

Ce changement mental accompagné par l'apparition dans les années 1980 de l'AMP faisait entrer notre spécialité au cœur même des problématiques sociétales de la maîtrise du désir et du moment d'enfanter.

De plus, le morcellement des éléments constitutifs d'une procréation – l'utérus, l'ovule, le spermatozoïde – a incité une recherche de parties externes au couple pour créer des embryons, et même dans certains cas la quête éventuelle de « nids » pour ceux-ci.

Dans notre pays, pour des raisons historiques constitutives de notre philosophie éthique en lien à l'utilisation du corps humain, ce fractionnement s'est inscrit dans le cadre d'une non-commercialisation du corps humain ou d'un quelconque élément entraînant la gratuité (jusqu'à quand ?) de tout don d'organe, ce qui n'est pas le cas dans la majorité des pays occidentaux où le don d'ovocytes, le don de sperme sont rémunérés, pour aboutir pour certains à la location d'utérus constituant la grossesse pour autrui.

Éthique professionnelle et convictions et/ou religion du médecin

Un médecin a-t-il la possibilité d'avoir une éthique personnelle et individuelle qui serait coexistante avec le code de déontologie partagé et opposable à tous les médecins ? Cette éthique

peut-elle être influencée par ses convictions religieuses ?

Comment un médecin aux convictions religieuses bien établies réagit-il face à des patients laïques ou aux convictions religieuses différentes ?

Il semble bien que les convictions religieuses ne peuvent pas ne pas influencer la pratique professionnelle médicale. Le médecin dans le choix de l'exercice médical et sa manière d'être sont très probablement en adéquation avec la profondeur de ce qu'il est dans son essence même. Ainsi, lorsqu'il s'agit de mettre en face à face son exercice et les choix de société qui sont le reflet de la donne historique d'un moment, il peut sentir la nécessité et parfois même l'obligation pour sa conscience professionnelle de faire référence à ses convictions les plus intimes comme sa conscience religieuse et naturellement quand il s'agit de la vie et de la mort, les références religieuses sont en premier plan. La gynécologie obstétrique est la spécialité médicale qui, ces dernières années, a été en proue de la réflexion à propos du début de la vie, des manières nouvelles de faire des enfants, de les refuser, des diagnostics anténataux. Ainsi pour l'interruption volontaire de grossesse, le législateur l'a très bien admis en instituant la clause de conscience.

Cependant, comme on vient de l'aborder, le médecin qui a des convictions et une pratique religieuse, comme celui qui n'en a pas, est placé sous la dépendance et l'autorité des lois du pays dans lequel il exerce, qui peuvent être d'ailleurs, faut-il le souligner, diverses et différentes suivant les pays et les continents, ce qui prouve l'influence culturelle prégnante même dans le domaine juridique. Le médecin ne peut faire valoir ses propres convictions religieuses que si elles ne sont pas en contradiction ou en opposition avec ces lois.

Qu'en est-il de la problématique de la rencontre du médecin aux convictions personnelles et de patients qui en ont aussi mais différentes de celles du médecin ? Là aussi, il n'y a pas de conflit supplémentaire car les convictions du médecin ne peuvent pas être en contradiction avec les lois du pays comme celles du patient, et en cas de clause de conscience prévue par la loi le(la) patient(e) change de praticien.

Comme on l'a vu plus haut, il y a même une possibilité de mettre en adéquation les convictions religieuses des patients avec la pratique médicale sans occulter les convictions du médecin, c'est celle réalisée par le concept de la consultation éthico-religieuse, la « bien nommée » consultation qui réalise une pratique appliquée de l'abord éthico-religieux en accord avec les lois françaises. Cette consultation permet la pratique d'une mission essentielle du médecin qui est d'aider au mieux les patients qui le consultent dans leurs aspects psychologiques, ce qui est habituel aux médecins, mais sans oublier que l'aspect psychologique est aussi imprégné de la problématique culturelle et de l'unicité de chaque patiente, de chaque patient.

Qu'est-ce que l'éthique ?

Peut-on arrêter la connaissance ? Comme l'écrit le Professeur Carbonnier, professeur à la faculté de droit à Paris : « le juriste ne pourra jamais s'accréditer de l'assurance divine pour dire la justice. Ce sera toujours une justice des hommes, donc provisoire, mais toujours à découvrir, à refaire, ou à parfaire. »

Et qu'est-ce que l'éthique ? Est-ce de la philosophie, du droit ? L'éthique, c'est la responsabilité :

- à propos des conséquences sociales et psychologiques qu'impliquent les changements fondamentaux de la désexualisation de la perpétuation de l'espèce, dont une éventualité, notamment, est celle d'avoir des femmes qui fournissent des ovules, des femmes qui en bénéficient et des femmes qui ne seraient que des « porteuses ». Ces effets pervers de la médecine ont pourtant permis aux femmes, comme l'a montré Edward Shorter dans *Le corps des femmes ont amené des évolutions*, d'acquérir une certaine forme de liberté. Ce qui s'inscrit dans l'histoire de la modernité avec la quasi-fin de la mortalité féminine due aux maternités, la découverte et l'appropriation de la contraception, la sexualité sans procréation, et maintenant la procréation sans sexualité ;
- vis-à-vis de cette manipulation de la vie que constitue la création de la vie en laboratoire, manipulation qui bouleverse dans le conscient (et que dire de l'inconscient) l'idée même de filiation. Mais est-ce cela une filiation ? Les traitements de l'infertilité peuvent toucher à ce qui

paraissait immuable : le rapport entre la procréation et le temps; ils peuvent détruire ce qui paraissait immuable : la succession des générations. Avec l'AMP, on pourrait avoir une descendance sans avoir d'enfant. C'est aujourd'hui que nous décrivons, et demain qu'en sera-t-il si le clonage, si l'utérus artificiel deviennent possibles, que préparons-nous pour cette future société? La réflexion éthique doit anticiper ces éventualités;
- de notre société qui engendre une société nouvelle qui sera le monde dans lequel nos enfants évolueront. Où se situe le gynécologue s'il prend conscience de sa place dans la représentativité de «la scène primitive»? Et on peut s'interroger avec Pierre Legendre : «Doit-on participer au refoulement de l'interrogation généalogique si fondamentale pour obtenir la différenciation des individus dans l'espèce? La généalogie, c'est la reproduction de l'être parlant et de ce qui le soutient : le désir.»

L'éthique, c'est la rencontre de la responsabilité et des limites de l'action, limites juridiques, philosophiques, religieuses.

L'éthique peut-elle être universelle? Elle est comme le droit, le reflet de la donne historique d'un moment, d'une société donnée. «On ne peut parler de la bioéthique comme si elle était une science, ses formes varient selon les pays et les cultures.» dit Hubert Doucet.

On peut éventuellement choisir d'appliquer entièrement les quatre principes de l'éthique médicale de Beauchamp et Childress ou d'en choisir un ou plusieurs selon ses convictions :
- le principe d'autonomie;
- le principe de non-malfaisance;
- le principe de bienfaisance;
- le principe de justice.

Enfin qu'est-ce que la norme en général, et en éthique plus singulièrement? On peut avec Ruwen Ogien trouver au mot norme trois sens :
- impératif ou prescriptif : ce qu'il faut faire ou ne pas faire, ce qui est permis, obligatoire ou interdit;
- appréciatif : ce qu'il est bon ou correct ou incorrect d'être, de penser, de ressentir;
- descriptif : manières d'être, d'agir, de penser les plus fréquentes dans une population donnée.

La norme, ce n'est pas seulement ce qui d'une certaine façon est apprécié subjectivement, désiré ou jugé légitime.

«Si on ne sait pas qu'on est fils, on n'a pas envie d'être père. Il faut savoir que l'on a été soi-même l'avenir d'un passé pour pouvoir devenir le passé d'un avenir.» nous dit Rémi Brague.

Bibliographie

Beauchamp TL, Childress JF. Les principes de l'éthique médicale. Paris : Les Belles Lettres; 2008.
Bonte P, Izard M. Dictionnaire de l'ethnologie et de l'anthropologie. Paris : PUF; 2008.
Brague R. Les ancres dans le ciel. Paris : Flammarion; 2013.
Fagot-Largeault A. Médecine et philosophie. Paris : PUF; 2010.
Ferry L, Gauchet M. Le religieux après la religion. Paris : Grasset; 2011.
Gaille M. Philosophie de la médecine. Paris : Vrin; 2011.
Grazi R. Overcoming infertility. The Toby Press; 2005.
Hirsch E. Éthique, médecine et société. Paris : Vuibert; 2007.
Kopp N, Rethy MP. Éthique médicale interculturelle. Paris : L'Harmattan; 2012.
Le démembrement de la parenté. Cités; 2006. no 28.
Mathieu S. L'enfant des possibles. Paris : éditions de l'Atelier; 2013.
Taguieff PA. La bioéthique ou le juste milieu. Paris : Fayard; 2007.

Chapitre 17

Inséminations intra-utérines : indications, réalités, résultats

C. Splingart, A. Catteau, P. Barrière

Depuis la première insémination réalisée en 1770 par John Hunter et le premier article publié en 1962, sa complexité s'est accrue au niveau de la préparation des spermatozoïdes et de la stimulation. L'objectif reste de faciliter la rencontre des gamètes mâles et femelles au niveau de l'appareil génital de la femme. Si elle reste une technique moins coûteuse au regard de la fécondation *in vitro* (FIV), on peut se demander quelle est sa véritable place aujourd'hui dans la prise en charge des couples ?

Indications classiques

Les indications des inséminations intra-utérines (IIU) avec sperme du conjoint demeurent variées et mal définies. Les indications actuellement décrites des IIU sont : infertilité cervicale, hypofertilité masculine, troubles (physiques ou psychiques) empêchant les rapports sexuels (vaginisme, troubles de l'éjaculation, malformations ou troubles neurologiques et autres troubles sexologiques), infertilité inexpliquée, endométriose modérée, conversion d'une FIV en IIU proposée en cas de réponse ovarienne insuffisante.

Réalisation des inséminations intra-utérines

Stimulation ovarienne

Les IIU peuvent être réalisées théoriquement en cycle spontané ou le plus souvent stimulé par des anti-œstrogènes ou des gonadotrophines. Le protocole de stimulation ovarienne doit être fixé après un diagnostic positif et étiologique du trouble de l'ovulation. La seule indication du citrate de clomifène est le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) et il n'a pas d'intérêt dans l'infécondité inexpliquée. La posologie usuelle du citrate de clomifène est de 50 mg/jour pendant 5 jours du 2e au 6e jour du cycle spontané ou induit par les progestatifs en cas de spanioménorrhée ou d'aménorrhée (le plus souvent 10 mg/jour pendant 10 jours de didrogestone). En l'absence de réponse échographique et hormonale, le traitement sera modifié à 100 mg/jour. En l'absence de réponse à cette posologie, la plupart des équipes proposent de considérer la patiente comme résistante au clomifène en raison des possibles effets anti-œstrogéniques sur l'endomètre à des posologies supérieures. Le protocole de choix pour les gonadotrophines est le protocole *low-dose-step up*. Le protocole se définit par une posologie initiale faible, éventuellement augmentée par paliers lentement progressifs. La posologie initiale est de 50 à 75 UI et des paliers de 25 à 37,5 UI supplémentaires par jour. L'incrémentation de la dose est proposée pour chaque palier en l'absence de réponse échographique et hormonale après 10 à 14 jours de traitement. L'administration des gonadotrophines se réalise par voie sous-cutanée pendant 7 à 12 jours en moyenne selon la réponse ovarienne. Dans tous les cas, y compris pour le citrate de clomifène, un monitorage régulier, à la fois échographique et biologique (dosages d'œstradiol, *luteinizing hormone* ou LH, progestérone), est requis de manière à évaluer la réponse ovarienne. Quand un à deux follicules ont atteint la taille de 17 à 18 mm de diamètre

avec un taux d'œstradiol de 150 à 250 pg/mL par follicule mature, une absence de pic de LH et d'élévation prématurée de la progestérone, une injection d'hCG *(human chorionic gonadotropin)* est réalisée pour déclencher l'ovulation.

Le soutien progestatif de la phase lutéale est discuté et ne repose ni sur un consensus ni sur des données bibliographiques certaines. Lorsqu'il est prescrit, la stratégie habituelle est de 200 mg/jour de progestérone micronisée *per os* ou en intravaginale. Il n'y a pas plus de consensus ou de certitude sur le maintien ou non du soutien jusqu'à 10 ou 12 semaines ou sur son arrêt lors du test de grossesse positif en considérant que l'hCG sécrétée par le trophoblaste devient alors un soutien suffisant du corps jaune.

L'orientation des prises en charge en assistance médicale à la procréation (AMP) privilégie désormais la recherche de grossesses monofœtales. En FIV, cet objectif est assuré par le développement des transferts sélectifs d'un embryon. En stimulation simple ou en IIU, le risque est évalué par l'analyse des résultats échographiques et hormonaux. Les critères habituels d'abandon de cycle et de conseil d'abstinence ou de rapports protégés sont la présence de trois ou plus de trois follicules matures associés à des taux d'estradiol supérieurs à 800 pg/mL. La proposition de déclenchement doit être discutée au cas par cas si deux ou trois follicules sont présents. L'estradiolémie n'est alors pas un critère absolu et des grossesses multiples sont observées lors de stimulations aboutissant à un follicule mature dominant et un ou plusieurs follicules de taille intermédiaire (12 à 14 mm). La croissance folliculaire d'une échographie à l'autre, l'âge de la patiente, la durée d'infécondité, le rang de la tentative et l'analyse des éventuels cycles antérieurs seront les éléments à évaluer pour prendre la meilleure décision. En fonction des situations cliniques, l'objectif pourra être strictement monofolliculaire ou bi- voire trifolliculaire chez des femmes plus âgées à pronostic faible. Le taux de d'accouchement multiple rapporté par l'Agence de la biomédecine (ABM) en IIU reste autour de 10 % pour l'année 2012.

Préparation du sperme

Étape préalable à l'insémination, la préparation du sperme a pour but d'éliminer le plasma séminal, inhibiteur de la fécondation, ainsi que les éventuels débris, cellules rondes et bactéries, et de sélectionner les spermatozoïdes les plus mobiles et normaux. Cette préparation vise à reproduire l'étape de capacitation *in vivo* lors du passage dans la glaire cervicale et les sécrétions utérotubaires. Plusieurs techniques existent – lavage simple, passage sur gradients discontinus de particules de silice colloïdale avec centrifugation, migration –, mais aucune n'a montré sa supériorité en ce qui concerne les spermes normaux. La centrifugation sur gradients discontinus (deux ou trois couches différentes) de particules de silice permet de sélectionner les spermatozoïdes en fonction de leur morphologie et de leur mobilité.

Le jour de l'insémination, le conjoint se rend au sein du laboratoire d'AMP afin de réaliser le recueil de sperme par masturbation. Il aura pris soin auparavant de respecter une abstinence de 2 à 5 jours et de boire au moins 1,5 L d'eau la veille afin d'éviter une contamination bactérienne du prélèvement. Après respect d'un temps de liquéfaction de 30 minutes à température ambiante, le prélèvement peut être traité. Plusieurs millilitres de sperme, avec cependant un volume maximum de 4 mL, sont déposés à la surface des couches de gradients. Une étape de centrifugation de 15 minutes à 1800 tours est réalisée, suivi d'une étape de lavage du culot obtenu dans un milieu de culture. En fonction de la taille du culot, il peut être réalisé une remise en suspension ou un *swim-up*. Une fois ces étapes de sélection–migration réalisées, le prélèvement est conservé à 37 °C pendant au moins 1 heure. La quantité minimale de spermatozoïdes mobiles déposés dans la cavité utérine varie selon les auteurs de 1 à 2 avec un maximum de 10 millions.

En cas d'IIU avec donneur (IAD) ou dans des cas particuliers d'IIU avec sperme du conjoint ou IAC (échec de prélèvement, traitement gonadotoxique, absences professionnelles…), la sélection des spermatozoïdes se réalise à partir de sperme congelé. Dans ces cas-là, le nombre de paillettes nécessaires pour l'obtention d'une fraction d'insémination satisfaisante est décidé en fonction des résultats du test de décongélation. Les quantités et les concentrations des gradients de silice utilisées seront plus faibles que pour la préparation d'un sperme frais. Dans certains cas, un lavage simple sera préférable aux gradients discontinus de silice.

Geste de l'insémination

L'insémination est pratiquée à l'aide d'un cathéter à usage unique, introduit au niveau de l'utérus. Le volume déposé est de l'ordre de 0,2 à 0,5 mL et ceci 32 à 36 heures après le déclenchement de l'ovulation. L'absence d'intérêt de la réalisation de l'insémination sous échographie a été établie. Après 10 minutes de repos, la patiente peut reprendre une activité normale [1].

Résultats

Insémination avec sperme du conjoint (IAC)

En France, en 2012, plus de 54 000 IAC ont été réalisées, avec un taux de grossesses échographiques de 12,4 % et un taux d'accouchements de 10,1 %. La moyenne européenne concernant le taux d'accouchements est de 8,9 % en 2010 [2].

Les facteurs influençant les résultats sont :

- l'âge de la patiente : les résultats montrent un taux d'accouchement de 9 % pour les moins de 40 ans et de 3,7 % pour les 40 ans et plus. En IAD, les taux passent de 14,5 % à 7,2 % [2] ;
- la fraction d'insémination : il est difficile de statuer sur une fraction minimale afin d'optimiser les chances de conception. Ceci peut compliquer la décision de prise en charge ou pas en IIU et peut résulter en des pratiques hétérogènes aboutissant à des faibles taux de succès. Certaines études démontrent qu'une fraction inséminée égale ou supérieure à 1 million de spermatozoïdes mobiles est prédictive d'obtention d'une grossesse, alors que d'autres évaluent qu'en deçà de 5 millions, les chances de grossesse sont faibles (5,5 %) [3]. Une méta-analyse récente n'a pas permis de trancher sur la corrélation entre qualité du sperme et succès d'IIU [4]. Les facteurs prédictifs d'une réussite ne sont pas préférentiellement la numération de la fraction mais plutôt celle de la stimulation ovarienne, le nombre de follicules recrutés et l'âge de la femme [5] ;
- la stimulation ovarienne : actuellement, les IIU se font préférentiellement à partir d'un cycle stimulé plutôt qu'un cycle naturel, avec de meilleurs taux de grossesses en cycle stimulé mais avec un risque plus élevé de grossesses gémellaires [5] ;
- un autre facteur entrant en compte dans la prise en charge est le coût engendré. L'assurance maladie prend en charge jusqu'à six IIU en France, mais les études montrent que les grossesses surviennent principalement lors des trois à quatre premières tentatives [6].

L'ensemble des facteurs que sont l'âge, la durée d'infertilité, le bilan féminin, dont la réserve ovarienne, est à considérer afin d'orienter au mieux le couple, notamment quand une prise en charge rapide en FIV paraît nécessaire ou prudente.

Insémination avec don de sperme (IAD)

En 2012, 3870 cycles d'IAD ont été réalisés en France, avec un taux de grossesses échographiques de 20,8 % et un taux d'accouchements de 18,1 % par cycle. Au niveau européen, les IAD permettent d'obtenir un taux d'accouchements par cycle de 13,8 % [2]. Une étude rétrospective réalisée aux Pays-Bas, comparant IIU et inséminations intra-cervicales en IAD, ne montre cependant pas de supériorité des IIU en termes de taux de grossesses échographiques cumulatifs (40,5 % *versus* 37,9 % respectivement) après six cycles, avec un déclin des résultats à partir de 32 ans [7].

Discussion

L'IIU est une technique d'AMP moins coûteuse et plus simple de réalisation que la FIV. Les taux de réussite publiés varient énormément (de 3 à 60 %), ce qui peut s'expliquer par l'hétérogénéité de la population, de la stimulation réalisée et de la technique de préparation du sperme. Cependant, avec un taux d'accouchements proche de 10 %, existe-t-il un bénéfice par rapport aux stimulations simples avec rapport programmé ou à la FIV ?

Inséminations intraconjugales comparées aux stimulations ovariennes simples

D'un point de vue réglementaire, l'IIU est soumise aux conditions légales de l'AMP contrairement à une stimulation simple. Les stimulations simples sont soumises à des recommandations de bonnes

pratiques et exigent une expérience professionnelle dans ce domaine. Les cycles et les issues des stimulations simples avec rapports programmés ne sont pas soumis à l'obligation d'être renseignés.

Il semble logique de proposer une stimulation simple lorsqu'une dysovulation ou une anovulation est retrouvée de façon isolée. Cependant, il est indispensable de recueillir les informations nécessaires pouvant faire suspecter une autre origine à l'infertilité (état des trompes, paramètres spermatiques du conjoint).

La stimulation ovarienne simple est similaire à celui d'une IIU et adaptée au statut ovarien, le but étant d'obtenir la croissance d'un ou deux follicules. La différence de prise en charge du couple va porter sur le fait que lors du déclenchement de l'ovulation, des rapports sexuels seront programmés. L'avantage principal, outre le moindre coût financier, est de permettre au couple de moins médicaliser le processus. La stratégie de prise en charge doit être réévaluée après trois à quatre cycles d'induction, car la majorité des grossesses surviennent au cours des quatre premiers cycles [8].

Les recommandations européennes sont divergentes, ce qui complique l'encadrement et la réalisation des IIU. Les recommandations anglaises de 2013 préconisent la réalisation d'IIU uniquement lorsque les rapports sexuels sont impossibles (pour des raisons physiques, neurologiques ou psychologiques) avec au maximum 12 cycles. En cas d'infertilité inexpliquée, d'endométriose modérée ou d'hypofertilité masculine modérée, il n'est pas recommandé d'effectuer d'IIU (sauf objections sociales, culturelles ou religieuses à la FIV) et de se tourner vers la FIV après 2 ans de rapport sexuels réguliers [9].

De nombreuses études se sont intéressées à la comparaison des résultats obtenus après stimulation ovarienne simple avec rapports programmés et après IIU.

La notion d'«hostilité cervicale» était basée sur l'existence d'un test post-coïtal (TPC) négatif, contrôlé avec optimisation de la glaire par œstrogènes. Le recours à une IIU paraissait logique de manière à aider les spermatozoïdes à franchir cette barrière. Des études ont montré l'intérêt limité du TPC en termes diagnostiques et pronostiques et sa réalisation n'est plus recommandée par de nombreuses organisations internationales. Une méta-analyse de 2005 conclut à l'absence d'utilité de la réalisation d'IIU dans le cadre de supposée dysmuccorrhée, car elle n'est que le reflet de la dysovulation qui sera corrigée par la stimulation [10].

Certaines études désormais un peu anciennes évoquent de meilleures chances de grossesse après stimulation de l'ovulation et IIU par rapport à la stimulation seule en cas d'infertilité inexpliquée ou masculine. Une méta-analyse de 2008 retrouve une différence de 6,1 % mais non significative en termes de taux de grossesses en faveur des IIU [11].

Au contraire, d'autres études ne démontrent pas l'intérêt de l'IIU *versus* la stimulation simple [12], ce qui peut signifier que le traitement par stimulation ovarienne est le facteur qui définira l'issue de la tentative et non le traitement du sperme et son dépôt dans l'utérus.

Des facteurs prédictifs de succès d'IIU ont été mis en évidence par différentes équipes et sont indispensables à considérer afin d'orienter la prise en charge d'un couple : durée d'infertilité courte (< 3 ans), âge de la patiente inférieur ou égal à 38 ans, absence d'altération importante des paramètres spermatiques. L'intérêt d'utiliser ces facteurs prédictifs pour cibler la population pouvant bénéficier de stimulations ovariennes simples avec rapports programmés est discuté [5, 13].

Les IIU peuvent être cependant proposées aux couples ayant des difficultés à gérer les rapports programmés.

Comparaison FIV–IIU

Dans certaines situations, il peut être discuté la possibilité de bénéficier directement d'une FIV plutôt que de tenter les IIU : durée d'infertilité élevée, bilan de réserve ovarienne perturbé, âge féminin élevé, altération des paramètres spermatiques. Depuis quelques années, de nombreuses études ont porté sur la comparaison IIU–FIV d'un point de vue coût–efficacité et pour certaines populations. Les résultats européens en FIV montrent un taux de grossesses de 29,2 % par ponction et un taux de d'accouchements de 22,4 % par ponction [2]. Une étude de coût–efficacité récente comparant les IIU et les ICSI *(intracytoplasmic sperm injection)* en cas

d'hypofertilité masculine légère montre un coût plus faible des IIU quand le sperme contient plus de 3 millions de spermatozoïdes mobiles et un avantage de l'ICSI pour les spermes contenant moins de 3 millions de spermatozoïdes mobiles. Cependant, le taux de naissances vivantes dans le premier cas s'étend de 5,58 % pour 4 millions à 10,2 % pour plus de 10 millions de spermatozoïdes mobiles dans l'éjaculat. Pour des chiffres de 1, 2 et 3 millions, les taux de naissances sont respectivement de 1,48, 2,96 et 4,27 %. Les séries rapportées en FIV et en ICSI dans les mêmes contextes rapportent des taux de 21,9 à 27,7 % [14].

Tout d'abord, l'âge de la femme est un facteur déterminant à considérer pour orienter la prise en charge. Des études se sont intéressées aux femmes de plus de 35 ans et montrent que, même si les chances de réussite sont plus faibles, la FIV permet d'obtenir de meilleurs résultats que les IIU. Un autre argument dans ce sens est d'éviter la réalisation de cycles répétés d'IIU, responsables d'une perte de temps [15].

Un cycle de FIV permet d'obtenir un meilleur taux cumulé de naissances vivantes que deux cycles d'IIU (39,2 % *versus* 27,6 % respectivement) [16].

Lors d'une faible réponse à la stimulation ovarienne, il est montré qu'au-dessus de deux follicules, il persiste un intérêt à poursuivre en FIV plutôt qu'en IIU. Le bénéfice s'amenuise lorsque la patiente est âgée d'au moins 40 ans [17]. Les données européennes montrent des taux d'accouchements en FIV de 8,8 % chez les 40 ans et plus *versus* 3,7 % en IIU [2].

En cas d'infertilité prolongée (≥ 4 ans), le passage en FIV est recommandé sans tenter au préalable des inséminations [18].

D'autres études contestent l'intérêt de passer directement en cycle de FIV. Le passage direct à un cycle de FIV suivi d'un transfert d'un embryon unique par rapport à la réalisation de trois cycles d'IIU permet d'obtenir les mêmes chances de grossesse (24 % *versus* 21 %) en cas d'infertilité inexpliquée, mais il s'agit d'une population de bon pronostic [19].

Le choix de la FIV peut avoir un autre avantage. Des études révèlent que l'IIU est responsable de nombreuses grossesses gémellaires, facteur qui peut être contrôlé plus facilement en FIV avec transfert d'un seul embryon [19, 20].

Synthèse IAC

Nous pouvons proposer l'arbre décisionnel suivant dans les indications restrictives analysées :

- patientes de moins de 38 ans à réserve ovarienne satisfaisante et sans autre facteur étiologique : trois à six cycles d'IIU avant FIV ;
- patientes de 38 à 40 ans, à réserve ovarienne satisfaisante, sans autre facteur étiologique (spermogramme et imagerie normaux) : trois cycles d'IIU avant FIV ;
- patientes de plus de 40 ans : FIV d'emblée et réévaluation en fonction de la réponse ovarienne ;
- patientes à réserve ovarienne basse dans la tranche d'âge : FIV d'emblée et réévaluation en fonction de la réponse ovarienne.

Insémination intra-utérine avec don de sperme

Le choix de la stratégie d'AMP entre IIU et FIV doit se faire à partir de l'âge de la patiente, du type d'infertilité féminine, de la réserve ovarienne et du statut ovulatoire.

Les données 2012 du rapport de l'ABM donnent un taux d'accouchements de 18,1 % par cycle d'IIU et de 21,4 % par ponction en FIV.

Des facteurs pronostiques de succès en IAD ont été établis (âge de la patiente et nombre de follicules matures) [21]. Il est établi que les taux de succès diminuent fortement en IAD à partir de 38 ans. Le taux de grossesse est supérieur en FIV en comparaison avec l'IIU et cela même après 40 ans et certains suggèrent que les inséminations ne devraient plus être utilisées après cet âge.

Synthèse IAD

Nous pouvons proposer l'arbre décisionnel suivant :

- pour les patientes âgées de moins de 38 ans : lorsque le bilan est normal, quatre à six tentatives d'IAD peuvent être proposées avant de passer en FIV avec don de sperme (FIV-D) en cas d'échec. Si la réserve ovarienne est faible dans la tranche d'âge, une prise en charge immédiate en FIV-D peut être discutée ;
- pour les patientes de plus de 38 ans : si le bilan est normal, trois tentatives d'IAD peuvent être proposées avant de passer rapidement en FIV-D

en cas d'échec. Si la réserve ovarienne est limite, il est préférable d'envisager une FIV-D d'emblée.

Après six cycles d'IAD sans succès, le couple peut être orienté en FIV-D en l'absence de facteurs péjoratifs.

Conclusions

L'IIU est une technique d'AMP utilisée depuis de nombreuses années. Les recommandations varient d'un pays à un autre et la France utilise actuellement beaucoup l'IIU. En effet, en 2010, les inséminations réalisées en France représentaient 31,6 % de toute l'activité européenne en IAC. Les données actuelles peuvent faire réévaluer, en fonction des situations, la place des IAC par rapport aux stimulations simples avec rapports programmés ou à la FIV conventionnelle.

Références

[1] Saleh A, Tan SL, Biljan MM, Tulandi T. A randomized study of the effect of 10 minutes of bed rest after intrauterine insemination. Fertil Steril 2000 ; 74 : 509–11.

[2] Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010 : results generated from European registers by ESHRE-supplementary data. Hum Reprod Oxf Engl 2014 ; 29 : 2099–113.

[3] Badawy A, Elnashar A, Eltotongy M. Effect of sperm morphology and number on success of intrauterine insemination. Fertil Steril 2009 ; 91 : 777–81.

[4] Ombelet W, Dhont N, Thijssen A, et al. Semen quality and prediction of IUI success in male subfertility : a systematic review. Reprod Biomed Online 2014 ; 28 : 300–9.

[5] Nuojua-Huttunen S, Tomas C, Bloigu R, et al. Intrauterine insemination treatment in subfertility : an analysis of factors affecting outcome. Hum Reprod Oxf Engl 1999 ; 14 : 698–703.

[6] Farhi J, Orvieto R. Cumulative clinical pregnancy rates after COH and IUI in subfertile couples. Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol 2010 ; 26 : 500–4.

[7] Kop PA, van Wely M, Mol BW, et al. Intrauterine insemination or intracervical insemination with cryopreserved donor sperm in the natural cycle : a cohort study. Hum Reprod Oxf Engl 2015 ; 30 : 603–7.

[8] CNGOF. Recommandations pour la pratique clinique : la prise en charge du couple infertile. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2010 ; 39 : S1–342.

[9] National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK). Fertility : assessment and treatment for people with fertility problems. NICE Clinical Guidelines 2013 ; no 156.

[10] Helmerhorst FM, Van Vliet HA, Gornas T, et al. Intra-uterine insemination versus timed intercourse for cervical hostility in subfertile couples. Cochrane Database Syst Rev 2005 ; 4.

[11] Snick HK, Collins JA, Evers JLH. What is the most valid comparison treatment in trials of intrauterine insemination, timed or uninfluenced intercourse ? A systematic review and meta-analysis of indirect evidence. Hum Reprod Oxf Engl 2008 ; 23 : 2239–45.

[12] Bensdorp AJ, Cohlen BJ, Heineman MJ, Vandekerckhove P. Intra-uterine insemination for male subfertility. Cochrane Database Syst Rev 2007 ; 4.

[13] Dinelli L, Courbière B, Achard V, et al. Prognosis factors of pregnancy after intrauterine insemination with the husband's sperm : conclusions of an analysis of 2,019 cycles. Fertil Steril 2014 ; 101 : 994–1000.

[14] Moolenaar LM, Cissen M, de Bruin JP, et al. Cost-effectiveness of assisted conception for male subfertility. Reprod Biomed Online 2015 ; 30 : 659–66.

[15] Wiser A, Shalom-Paz E, Reinblatt SL, et al. Ovarian stimulation and intrauterine insemination in women aged 40 years or more. Reprod Biomed Online 2012 ; 24 : 170–3.

[16] Chambers GM, Sullivan EA, Shanahan M, et al. Is in vitro fertilisation more effective than stimulated intrauterine insemination as a first-line therapy for subfertility ? A cohort analysis. Aust N Z J Obstet Gynaecol 2010 ; 50 : 280–8.

[17] Reichman DE, Gunnala V, Meyer L, et al. In vitro fertilization versus conversion to intrauterine insemination in the setting of three or fewer follicles : how should patients proceed when follicular response falls short of expectation ? Fertil Steril 2013 ; 100 : 94–9.

[18] Zadehmodarres S, Oladi B, Saeedi S, Jahed F, Ashraf H. Intrauterine insemination with husband semen : an evaluation of pregnancy rate and factors affecting outcome. J Assist Reprod Genet 2009 ; 26 : 7–11.

[19] Custers IM, König TE, Broekmans FJ, et al. Couples with unexplained subfertility and unfavorable prognosis : a randomized pilot trial comparing the effectiveness of in vitro fertilization with elective single embryo transfer versus intrauterine insemination with controlled ovarian stimulation. Fertil Steril 2011 ; 96 : 1107–11 e1.

[20] Van Rumste MME, Custers IM, van der Veen F, et al. The influence of the number of follicles on pregnancy rates in intrauterine insemination with ovarian stimulation : a meta-analysis. Hum Reprod Update 2008 ; 14 : 563–70.

[21] Mokdad C, Clavier B, Perdrix A, et al. Prognosis factors in donor semen insemination : a 10-years follow-up study of 188 patients. Gynecol Obstet Fertil 2013 ; 41 : 96–104.

Chapitre 18

La stimulation ovarienne pour fécondation *in vitro* : les protocoles courants

R. Fanchin, A. Oppenheimer

L'objectif principal de la stimulation ovarienne pour fécondation *in vitro* (FIV) est d'initier et soutenir artificiellement la croissance des follicules sélectionnables (classe 5) [1, 2] jusqu'au stade préovulatoire (16–22 mm). D'une manière générale, contrairement aux techniques de stimulation simple en vue de rapports sexuels programmés ou d'insémination artificielle, la technique FIV nécessite souvent un nombre plus important d'ovocytes et d'embryons pour que le choix des embryons les plus aptes au transfert embryonnaire soit le plus aisé possible [3, 4]. L'administration de FSH *(follicle-stimulating hormone)* – en association ou non avec l'activité LH *(luteinizing hormone)* – a pour effet, dans un premier temps, de reproduire l'élévation intercyclique de la FSH puis de la prolonger afin de maintenir et accomplir la croissance des follicules sélectionnables recrutés. L'administration d'hCG *(human chorionic gonadotropin)* vise à reproduire la décharge ovulante de LH.

Du point de vue pratique, la stimulation ovarienne en vue de FIV s'effectue à l'aide de schémas bien établis appelés « protocoles ». Dans les années 1980, l'administration de gonadotrophines exogènes a été associée à la désensibilisation de l'axe hypothalamo-hypophysaire par administration d'un agoniste de la GnRH *(gonadotropin-releasing hormone)* pour réduire le risque d'ovulation spontanée avant le déclenchement programmé de l'ovulation [5–7]. La formule initialement choisie, appelée « protocole agoniste long », consiste à obtenir une suppression profonde et durable des gonadotrophines hypophysaires par administration d'un agoniste de la GnRH avant de débuter l'injection de gonadotrophines exogènes. Par la suite, d'autres combinaisons et d'autres médicaments ont vu le jour. D'une manière générale, les « protocoles » sont donc essentiellement classés selon le type de blocage hypophysaire utilisé.

Protocoles agonistes « longs »

Le protocole agoniste « long » est défini par l'instauration de la désensibilisation hypophysaire complète avant le démarrage de l'administration de gonadotrophines. Le processus de désensibilisation de l'hypophyse à la GnRH native est obtenu à l'aide des analogues agonistes de la GnRH et nécessite quelques jours. En effet, les agonistes de la GnRH entraînent dans un premier temps une libération transitoire mais puissante de LH et FSH par l'hypophyse (appelé effet *flare-up*) avant que les récepteurs de cette glande ne deviennent virtuellement insensibles à la GnRH native. Deux sortes de protocoles agonistes longs sont utilisées selon la dose d'agoniste de la GnRH administrée : les protocoles forme retard ou forme quotidienne.

Le protocole long forme retard utilise une dose d'agoniste de la GnRH puissante et unique. Comme illustré dans la figure 18.1, l'injection, dont la voie d'administration choisie est souvent l'intramusculaire, doit se faire préférentiellement en tout début des règles ou pendant la phase lutéale. Cette stratégie permet

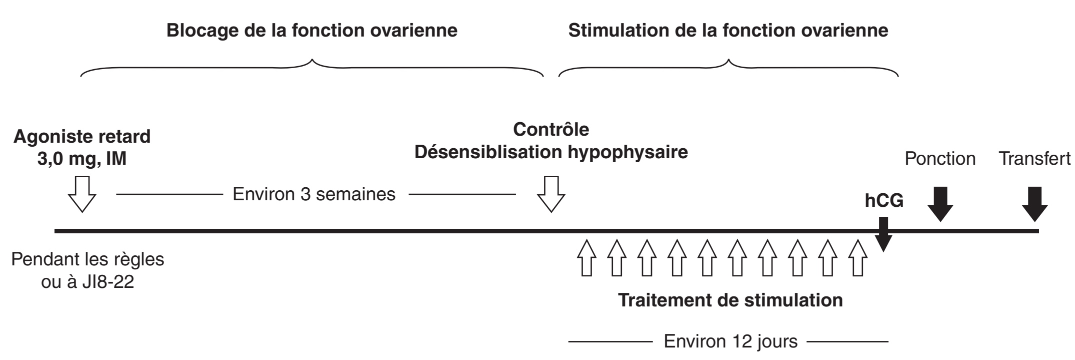


Figure 18.1 Protocole agoniste long (forme retard) : schéma thérapeutique.

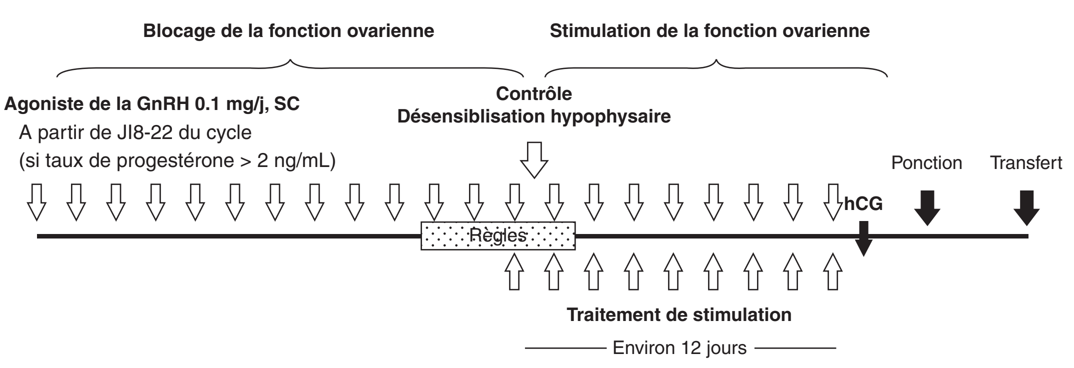


Figure 18.2 Protocole agoniste long (forme quotidienne) : schéma thérapeutique.

d'éviter la présence du follicule dominant qui peut subir l'atrésie, suite au manque abrupt de FSH engendré par l'agoniste de la GnRH, et se transformer en « kyste » fonctionnel. L'avantage principal des protocoles longs forme retard est leur simplicité, bien qu'ils soient souvent associés à des métrorragies fugaces et/ou à des signes d'hypo-œstrogénie liés à la brusque variation hormonale due à l'action pharmacologique du produit. Ces symptômes s'estomperont avec le démarrage de la stimulation ovarienne proprement dite. Celle-ci à son tour ne devra être initiée sans qu'on se soit préalablement assuré de l'effondrement des taux circulants de LH et d'œstradiol et de l'absence de « kystes » ovariens.

Le protocole long forme quotidienne est une variante du précédent. Les injections d'agoniste de la GnRH sont répétées quotidiennement et engendrent chacune un mini-effet *flare-up* jusqu'à ce que l'hypophyse ne réponde guère aux stimuli de la GnRH. Une autre option moins invasive et efficace aux injections est l'administration d'agoniste de la GnRH par voie nasale. Le démarrage du traitement agoniste se fait souvent après l'ovulation (vers le milieu de phase lutéale) mais certains préfèrent l'utiliser dès le début des règles, pour les mêmes raisons que le protocole retard. Étant donné que l'action des agonistes de la GnRH est dose-dépendante, le freinage obtenu est moins prononcé et moins durable avec les protocoles quotidiens par rapport aux protocoles retard. Un schéma classique du protocole long forme quotidienne est détaillé dans la figure 18.2.

Protocole agoniste « court »

Contrairement aux protocoles agonistes longs, le protocole agoniste court est caractérisé par l'instauration du blocage hypophysaire en même

temps que l'administration de gonadotrophines exogènes. Son but est de profiter de l'effet *flare-up* des gonadotrophines exogènes pour augmenter la puissance de la stimulation. Étant donné l'absence de période de freinage de l'hypophyse avant la stimulation, la durée totale du traitement est plus brève ce qui justifie sa simplicité. Néanmoins, le protocole agoniste court présente certains inconvénients. En particulier, et comme nous verrons par la suite, ce protocole est associé à un plus faible recrutement folliculaire par rapport aux protocoles longs, essentiellement expliqué par l'hétérogénéité des tailles folliculaires en début de phase folliculaire, phénomène qui s'accentue d'ailleurs avec l'âge de la patiente. Un schéma de protocole court est détaillé dans la figure 18.3.

Protocoles antagonistes

Les protocoles antagonistes constituent une alternative intéressante aux protocoles agonistes. Les antagonistes de la GnRH ayant des caractéristiques pharmacologiques différentes des agonistes de la GnRH, notamment l'effet suppresseur immédiat de la sécrétion des gonadotrophines (absence d'effet *flare-up*), ils permettent une utilisation plus tardive pendant la phase de stimulation ovarienne. Il n'y a donc pas de risque de déclenchement involontaire de l'ovulation comme on pourrait craindre si on décidait de suivre la même stratégie avec les agonistes de la GnRH.

Deux variantes des protocoles antagonistes existent : le protocole à doses multiples ou à dose unique. Avec le protocole antagoniste à doses multiples, l'administration de l'antagoniste (0,25 mg/jour) démarre vers J5 ou J6 de la stimulation indépendamment des tailles folliculaires et/ou des dosages hormonaux. Bien qu'il nécessite la répétition quotidienne de petites doses d'antagoniste, son maniement est donc plus aisé et le risque de pic intempestif de LH dérisoire. Un schéma de cette variante de protocole antagoniste est présenté dans la figure 18.4.

La variante à dose unique des protocoles antagonistes ne requiert qu'une voire deux injections

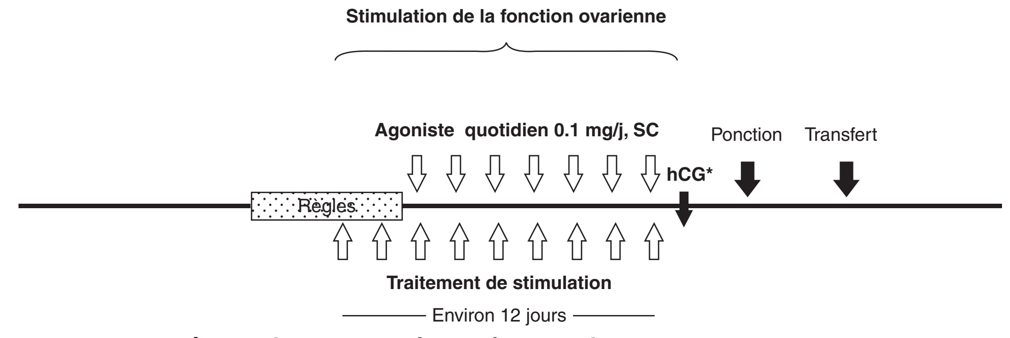


Figure 18.3 Protocole agoniste court : schéma thérapeutique.

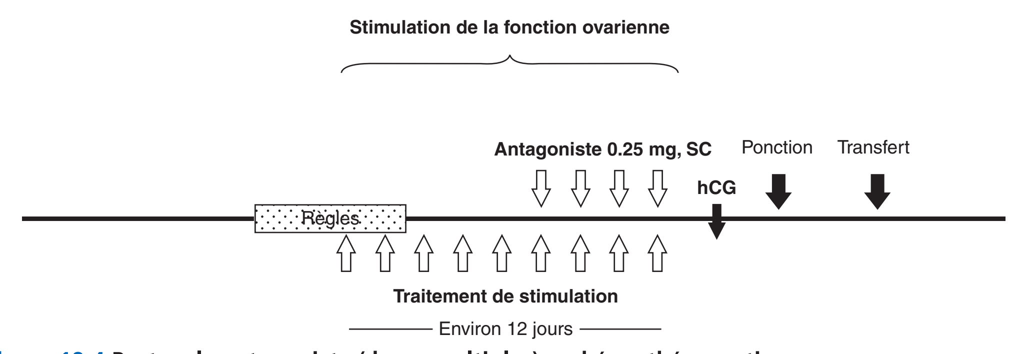


Figure 18.4 Protocole antagoniste (doses multiples) : schéma thérapeutique.

d'une dose 12 fois plus importante d'antagoniste (3 mg). L'intervalle entre les injections est en général de 2 à 3 jours. Compte tenu de la dose plus forte, il est recommandé que la première injection ne soit effectuée que lorsque les follicules ont déjà atteint une taille critique (> 13 mm), à partir de laquelle leur dépendance à la FSH est réduite. Cette attitude requiert donc le monitorage plus attentif des tailles folliculaires et de leur production hormonale. Un schéma simplifié de ce type de protocole est présenté dans la figure 18.5. Cependant, en raison du retrait récent du marché de la dose de 3 mg, le protocole antagoniste dose unique ne peut plus être utilisé.

Certaines contraintes physiologiques

L'utilisation adéquate des différents protocoles décrits ci-dessus, ainsi que la bonne appréciation de la réponse ovarienne, se base sur ma maîtrise de certaines notions de la physiopathologie ovarienne. Celles-ci permettent la bonne individualisation du type de la stimulation et aident à l'interprétation de l'éventuelle réaction ovarienne à un traitement donné. Elles ouvrent également la porte à des protocoles de stimulation alternatifs qui visent essentiellement le bon rapport entre simplicité et efficacité.

Dans le cycle naturel, les concentrations de FSH endogène augmentent progressivement à partir du 5e jour qui précède les règles [8, 9]. Pendant la transition lutéo-folliculaire, et selon son seuil de sensibilité à la FSH [10–12], chaque follicule sélectionnable se développe plus au moins rapidement en réponse à la FSH [13]. En conséquence, l'élévation intercycle de FSH induit la croissance non coordonnée de certains follicules sélectionnables, se traduisant par une hétérogénéité de leur taille (entre 2–9 mm) en début de phase folliculaire [14–19].

Toutefois, lors de la stimulation ovarienne, cette situation peut se révéler « contre-productive ». En pratique, un des impératifs de la stimulation ovarienne pour FIV est la synchronisation de la croissance des follicules en réponse à la FSH. La décision de déclenchement de l'ovulation sera d'autant plus facile que les follicules auront atteint la taille ovulatoire de façon concomitante. Lorsque les tailles folliculaires sont hétérogènes et que seule une fraction des follicules remplit les critères de maturation folliculaire, la décision d'administrer de l'hCG au moment le plus opportun est parfois difficile à prendre. De cette difficulté peut résulter une diminution du nombre d'ovocytes matures et d'embryons obtenus. En conséquence, le choix des embryons à transférer devient laborieux [3, 4]. Ce problème se pose avec le plus d'acuité chez les femmes âgées et/ou présentant un déficit ovarien, pour lesquelles le pronostic de grossesse est défavorable. Chez ces patientes, l'hétérogénéité de la taille des follicules sélectionnables [20–23] pourrait induire une aggravation du rendement de la stimulation.

Bien que la réponse des follicules à FSH relève de plusieurs facteurs inter-liés – intrafolliculaire [10, 12], micro-environnement ovarien [24–28] et FSH elle-même [29, 30] –, leur degré de développement joue un rôle non négligeable. Contrairement aux petits follicules, les follicules de

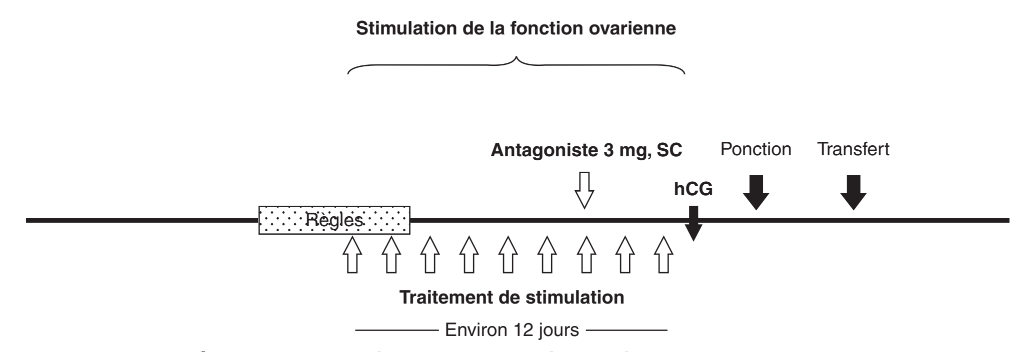


Figure 18.5 Protocole antagoniste (dose unique) : schéma thérapeutique.

grande taille sont très sensibles à FSH [1, 31–34]. Par conséquent, lors de la stimulation ovarienne, l'administration de doses pharmacologiques de FSH depuis le début de la phase folliculaire peut renforcer l'hétérogénéité folliculaire et permettre la maturation finale de certains follicules, tandis que d'autres n'y parviendront pas. L'hétérogénéité de la taille des follicules sélectionnables pourrait expliquer la différence d'efficacité observée entre divers protocoles de stimulation pour FIV.

Le rendement de cette association agoniste de la GnRH/gonadotrophines est supérieur à celui des traitements classiques sans blocage hypophysaire, utilisant les gonadotrophines exogènes seules ou associées au citrate de clomifène, puisque le nombre d'ovocytes, d'embryons et le taux de grossesses obtenus sont supérieurs à ceux résultant de stimulations simples [5, 35–41]. Ces résultats sont en partie expliqués par l'obtention d'une cohorte folliculaire homogène, grâce à la suppression de la sécrétion des gonadotrophines endogènes [35].

Des variantes de l'association agoniste de la GnRH/gonadotrophines, les protocoles agonistes courts qui dispensent de la suppression préalable des gonadotrophines endogènes pour tirer bénéfice de l'effet libérateur initial de FSH et de LH *(flare-up)*, se sont montrées moins efficaces que les protocoles agonistes longs [42–45]. Ces résultats ont été par la suite confirmés par une méta-analyse comparant l'efficacité des deux types de protocoles [46].

De manière similaire, des études ont constaté une différence des taux de grossesses entre les protocoles agonistes longs et les protocoles antagonistes de la GnRH [47, 48]. Comme pour les protocoles agonistes courts, ces résultats ont été confirmés ultérieurement par une méta-analyse [49]. De plus, comparé aux protocoles agonistes longs, les protocoles antagonistes [47–49], comme les protocoles agonistes courts [42–44, 46], sont associés à une durée de la stimulation plus brève et à l'obtention d'un nombre plus faible d'ovocytes et embryons.

Ces données suggèrent que les différences d'efficacité entre d'une part, les protocoles agonistes courts ou antagonistes et d'autre part, les protocoles agonistes longs pourraient reposer sur l'existence de configurations folliculaires différentes avant le début de l'administration des gonadotrophines exogènes. En effet, il est possible que la suppression ou la diminution de la FSH endogène, obtenue par la désensibilisation hypophysaire, joue un rôle sur la croissance des follicules en réduisant leur taille moyenne et les écarts entre leurs tailles. Ceci explique par ailleurs les différences de durée de stimulation et de nombre d'ovocytes matures récupérés à la ponction, observées entre les protocoles agonistes longs et les protocoles agonistes courts [42–44, 46] ou antagonistes de la GnRH [47–49].

Pour optimiser les résultats obtenus avec les deux dernières modalités de stimulation ovarienne évoquées ci-dessus (protocoles agonistes courts ou antagonistes), il serait souhaitable de tenter de réduire les écarts de taille entre les follicules de 2 à 9 mm avant toute administration de FSH exogène. Pour y parvenir, la suppression ou la diminution de la sécrétion de FSH pendant la phase lutéale tardive pourraient être d'un grand intérêt.

À part le blocage hypophysaire induit par les agonistes de la GnRH lors de leur utilisation dans les protocoles agonistes longs, d'autres approches sont envisageables. L'une d'entre elles consiste en l'administration d'une pilule contraceptive avant la stimulation ovarienne [50, 51]. En pratique, cette méthode a été surtout utilisée pour décaler la survenue des règles et le début de la stimulation afin de pouvoir programmer le recueil ovocytaire [52–55]. Elle a également été utilisée dans le but précis d'améliorer la coordination de la croissance folliculaire grâce à la diminution des concentrations circulantes de gonadotrophines hypophysaires [56]. Ainsi, une pilule contraceptive administrée avant la stimulation ovarienne par du citrate de clomifène a permis d'augmenter de manière significative le nombre d'ovocytes recueillis et d'améliorer les taux de grossesses [56]. Cette stratégie a été reprise de manière efficace par d'autres équipes [57]. Certains auteurs ont même, par cette méthode, obtenu une amélioration de la réponse ovarienne à la stimulation [58–62].

Une autre approche simple et efficace est l'administration de doses physiologiques d'œstradiol en phase lutéale. L'administration d'œstradiol pendant la phase lutéale tardive offre la possibilité de synchroniser l'élévation de la FSH endogène avec le début d'administration de la FSH exogène [63]. Un délai de 3 jours après l'arrêt de l'administration d'œstradiol avant de débuter le traitement par FSH

exogène permet, selon ces auteurs, de bénéficier des effets de la sécrétion de FSH endogène [63]. Cette astucieuse manipulation hormonale autorise effectivement la synchronisation des signaux FSH endogène et exogène. Néanmoins, selon l'approche recommandée par de Ziegler *et al.* [63], il est possible que l'arrêt de l'administration d'œstradiol conduise à une libération progressive de FSH endogène dont le profil sera proche de celui observé en fin de phase lutéale et module négativement la synchronisation de la croissance folliculaire. Dans le cadre de la stimulation ovarienne pour FIV, cet effet pourrait être dommageable.

Nous avons utilisé l'œstradiol pour diminuer la sécrétion de FSH pendant la phase lutéale [64] sur une base distincte de celle mentionnée précédemment [63]. Notre objectif principal a été de réduire les écarts entre les tailles folliculaires pour optimiser le rendement de la stimulation ovarienne. Ainsi, contrairement à de Ziegler *et al.* [63], nous avons débuté la stimulation ovarienne après arrêt du traitement œstrogénique, ce qui a pour but de préserver les follicules sélectionnables de toute exposition prématurée à l'augmentation progressive de la FSH pouvant favoriser leur croissance hétérogène. Ce schéma de protocole œstradiol–antagoniste est illustré dans la figure 18.6.

Les résultats de ces études [64, 65] indiquent que l'administration lutéale d'œstradiol constitue une alternative intéressante pour augmenter le rendement de la stimulation ovarienne. Il est, par ailleurs, probable que l'efficacité du prétraitement par œstradiol en phase lutéale puisse rivaliser avec celle des protocoles agonistes longs ou avec d'autres approches visant la suppression de la FSH lutéale, comme l'administration d'une pilule contraceptive avant la stimulation ovarienne [50, 51, 57, 66]. D'autres études comparatives doivent cependant être envisagées pour confirmer cette hypothèse.

L'autre approche que nous avons évaluée pour diminuer les taux circulants de FSH et homogénéiser les tailles des follicules supérieurs à 2 mm en début de phase folliculaire est l'administration d'un antagoniste de la GnRH en phase lutéale tardive [67]. À part la diminution des taux de FSH, ce traitement réduit aussi la sécrétion endogène de LH, ce qui peut précipiter l'arrêt fonctionnel du corps jaune. Comme avec le traitement œstrogénique, cette approche a permis une réduction des écarts de taille entre les follicules supérieurs à 2 mm et une réduction des diamètres folliculaires moyens en début de phase folliculaire, et pourrait servir de base pour un nouveau concept de stimulation ovarienne. Toutefois, l'étude de la réponse ovarienne à la stimulation précédée ou non par l'administration prémenstruelle d'antagoniste de la GnRH s'avère nécessaire pour tester son intérêt pratique. En outre, l'efficacité des diverses approches visant à réduire les taux de FSH en phase lutéale (agonistes de la GnRH en protocole long, pilule contraceptive, œstradiol ou administration prémenstruelle d'antagoniste de la GnRH) doit être comparée à celle des protocoles sans inhibition de la FSH lutéale (protocoles sans désensibilisation hypophysaire, agonistes courts et antagonistes) lors d'études prospectives randomisées.

Par ailleurs, les clés du succès dans la stimulation ovarienne demeurent également dans le choix des molécules utilisées pour le déclenchement de l'ovulation et le support de la phase lutéale.

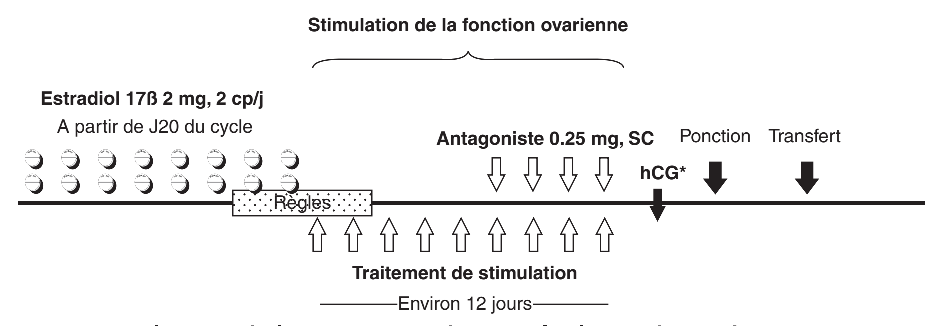


Figure 18.6 Protocole œstradiol–antagoniste (doses multiples) : schéma thérapeutique.

Déclenchement de l'ovulation

Lorsque les diamètres des follicules préovulatoires ont dépassé 15 mm et que le taux d'œstradiol est suffisant (en général >200 pg/mL), le déclenchement est réalisé par l'hCG urinaire (5000 ou 10 000 UI par voie intramusculaire) ou l'hCG recombinante (250 µg par voie sous-cutanée). Ainsi ce traitement mime le pic de LH et permet aux ovocytes de reprendre leur méiose. La ponction folliculaire est réalisée approximativement 36 heures après.

L'hCG a un double intérêt :

- elle permet la maturation ovocytaire finale ;
- elle stimule la production endogène de progestérone par les multiples corps jaunes à l'origine du support initial de la phase lutéale précédent l'implantation [68].

Depuis le début des années 1990, l'agoniste de la GnRH (Décapeptyl® 0,1 mg) est également utilisé pour le déclenchement de l'ovulation [66, 69, 70]. Son mécanisme d'action est différent de celui de l'hCG. En effet, il déclenche un pic endogène de LH et FSH par l'hypophyse et c'est donc la LH endogène qui assure la maturation folliculaire finale et l'ovulation. Il s'agit d'un procédé qui s'apparente plus à la physiologie que le déclenchement par de l'hCG. L'agoniste de la GnRH ne peut être utilisé dans les protocoles avec blocage par agonistes de la GnRH. De ce fait, sa place est réservée aux protocoles antagonistes de la GnRH.

Bien que l'efficacité de l'agoniste de la GnRH soit la même que l'hCG pour le déclenchement de l'ovulation en termes d'ovocytes matures et de qualité embryonnaire, sa demi-vie courte ne lui permet pas de prolonger la durée de vie du corps jaune contrairement à l'hCG. Ceci est à l'origine d'une insuffisance lutéale et d'un plus faible taux de grossesses par défaut d'implantation [71–73]. Cependant le risque d'hyperstimulation est quasi nul avec un déclenchement pas l'agoniste de la GnRH. Ceci a un intérêt chez les patientes à risque d'hyperstimulation ovarienne mais nécessite une congélation ovocytaire ou embryonnaire systématique à cause de l'insuffisance lutéale. Ce traitement est également utile chez les donneuses d'ovocytes pour éviter tout risque d'hyperstimulation ovarienne.

Support de la phase lutéale

La phase lutéale est définie comme la période entre l'ovulation et la survenue des règles ou le début de la grossesse. Suite à l'ovulation, déclenchée par le pic de LH ou l'apport exogène d'un bolus d'hCG, le corps jaune est créé par la transformation des cellules de la granulosa et de la thèque en cellules lutéales. La fonction majeure du corps jaune est la sécrétion de progestérone par les cellules de la granulosa sous l'effet de la LH. La progestérone permet la différenciation de l'endomètre, ce qui le rend apte à l'implantation. Les glandes deviennent tortueuses et les artères sinueuses, le stroma conjonctif est le siège de transformations œdémateuses appelées décidualisation. En cas d'implantation, le blastocyste sécrète de l'hCG qui permet le maintien du corps jaune.

Un déficit dans la concentration de progestérone au moment de l'implantation ou en début de grossesse peut être la cause de fausses couches précoces ou d'échecs d'implantation. L'insuffisance lutéale est retrouvée chez 3,5 à 20 % des patientes infertiles [74]. En plus d'intervenir dans la maturation de l'endomètre, la progestérone facilite l'implantation en stimulant la production de cytokines par les cellules non inflammatoires T-helper 2 [75].

Par ailleurs, la progestérone stimule la production de monoxyde d'azote et induit ainsi une vasodilatation et une augmentation d'apport en oxygène à l'endomètre [76, 77]. La progestérone inhibe la contractilité utérine en diminuant le nombre de récepteurs à l'ocytocine. Il existe une corrélation entre la baisse des taux de grossesses et l'augmentation des contractions utérines objectivées à l'échographie au moment du transfert embryonnaire. Une corrélation inverse est retrouvée entre la fréquence des contractions utérines et la concentration de progestérone soulignant ainsi le bénéfice de celle-ci en FIV [78].

Lors des cycles stimulés pour FIV, plusieurs étiologies peuvent être à l'origine des dysfonctionnements du corps jaune à l'origine de l'insuffisance lutéale [79] :

- la ponction folliculaire emmène une partie de la granulosa réduisant de ce fait le corps jaune ;

- la lutéinisation de la granulosa et sa transformation progressive en corps jaune avec sécrétion de progestérone peuvent survenir de façon prématurée avant le pic ovulatoire d'hCG. Ceci occasionne une accélération de la transformation de l'endomètre qui avance sa fenêtre d'implantation par rapport à l'évolution de l'embryon ;
- les analogues du GnRH perturbent la sécrétion naturelle de LH qui est l'élément physiologique de soutien de la phase lutéale. En protocole long, l'impact des agonistes de la GnRH est majeur. Avec des analogues rapides (Décapeptyl® 0,1 mg), l'effet de blocage de la sécrétion de LH persiste pendant 4 à 6 jours. Avec les analogues retard (Décapeptyl® 3 mg par exemple), l'effet peut persister durant toute la phase lutéale ;
- les antagonistes du GnRH inhibent la sécrétion naturelle de LH, qui est l'élément de soutien de la phase lutéale. Cet effet est réduit dans le temps par rapport aux analogues, particulièrement par l'usage des formes quotidiennes ;
- les taux élevés d'œstradiol et de progestérone produits par les différents corps jaunes sont à l'origine, durant la phase lutéale précoce, d'une inhibition de la sécrétion de LH par *feedback* négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire [80].

Le déficit en LH provoque une lutéolyse prématurée [81]. Le soutien de la phase lutéale est donc crucial en cas de FIV avec réponse multifolliculaire pour améliorer l'implantation et le taux de grossesses. Le taux de grossesses est corrélé à une concentration de progestérone plus élevée en milieu de phase lutéale soit 7 jours après la ponction folliculaire [82–84]. Un déclin du taux de fausses couches précoces de 80 % à 10 % est observé lorsque la concentration de progestérone en milieu de phase lutéale augmente de 40 nmol/L à 80–100 nmol/L. La plupart des études récentes suggèrent que le taux de fausses couches précoces est diminué et le taux de grossesses évolutives augmenté par l'apport d'un taux de progestérone adéquat au moment de l'implantation. Pour un cycle naturel, un taux dépassant 25–30 nmol/L semble suffisant, alors que des taux 3 fois supérieurs soit 80–100 nmol/L sont nécessaires après une stimulation ovarienne par gonadotrophines [68, 85].

La demi-vie longue de l'hCG permet une activité de LH durant la première moitié de la phase lutéale permettant la stimulation du corps jaune et l'obtention de concentration en progestérone excédant 150 nmol/L au moment du transfert embryonnaire. Cette concentration maximale de progestérone est atteinte au moment du transfert embryonnaire puis décroît après une semaine [86]. Les taux de progestérone obtenus par un apport exogène seul sont relativement modestes (entre 30 et 40 nmol/L) [87].

Les différentes molécules pour soutenir la phase lutéale

Compte tenu de la physiologie du corps jaune et de l'intérêt de la progestérone dans la gestation, la supplémentation peut se faire par soit de la progestérone (voies *per os*, vaginale ou intramusculaire), soit un produit ayant un effet LH-*like* à savoir l'hCG. La progestérone orale micronisée a été utilisée comme soutien de la phase lutéale jusqu'à la fin des années 1980 avec des résultats décevant du fait de sa faible biodisponibilité. Ce défaut a été corrigé par l'utilisation de la dydrogestérone orale. L'apport de la progestérone micronisée vaginale semble plus efficace que la dydrogestérone orale dans la transformation endométriale [88].

Suite à l'administration de progestérone intravaginale, de hautes concentrations de progestérone utérines sont atteintes. Elle constitue la voie d'administration préférentielle car le passage systémique est réduit [89] et permet ainsi de diminuer les effets secondaires tels la somnolence. La dose recommandée varie de 300 à 600 mg/jour repartie en deux ou trois prises.

L'administration de la progestérone en intramusculaire est souvent associée à des effets secondaires de type douleur et rash [90]. L'apport additionnel d'œstradiol en phase lutéale de cycle stimulé semble augmenter le taux d'implantations [91, 92]. L'utilisation de l'hCG pour soutenir la phase lutéale est largement admise [93] malgré le risque d'hyperstimulation dont la probabilité est corrélée à l'importance du bolus initial d'hCG. L'administration d'hCG permet de soutenir le corps jaune et d'augmenter les concentrations en œstradiol et progestérone.

La poursuite des agonistes de la GnRH en phase lutéale en complément de la progestérone

semble aboutir à une amélioration des taux de grossesses [94]. Cet effet peut être expliqué par la présence de récepteurs au GnRH au niveau du cytotrophoblaste du blastocyste, du bouton embryonnaire, du corps jaune et de l'endomètre. D'autres études récentes ne retrouvent pas de bénéfice [95]. D'autres études randomisées seront nécessaires pour conclure à une quelconque efficacité.

L'apport additionnel d'aspirine à petites doses a été proposé pour améliorer la vascularisation endométriale. Mais aucune étude randomisée ne semble montrer le moindre bénéfice sur l'implantation [96]. Il en est de même pour l'héparine de bas poids moléculaire qui n'a montré son efficacité qu'en cas de thrombophilie [97, 98].

Conclusion

La phase de stimulation ovarienne est sans doute un des piliers de la réussite de toute FIV. Hélas, les recettes « magiques » n'existent pas dans ce domaine et le choix du type et de la dose de stimulation pour chaque patiente doit tenir compte de nombreux paramètres comme l'environnement ovarien et la fonction ovarienne proprement dite. Bien évidemment, la mauvaise utilisation d'un protocole peut aboutir à des complications redoutables pour la patiente ainsi qu'hypothéquer les chances de grossesse. Tout au long de ce chapitre, que nous avons voulu à la fois pratique mais aussi centré sur des enseignements de la physiopathologie ovarienne, l'essentiel des connaissances pour le praticien a été présenté et discuté. Ces notions seront utiles pour la personnalisation de la stimulation ovarienne, la meilleure stratégie pour aboutir au meilleur rapport efficacité–simplicité–coût–risques au bénéfice des patientes.

Références

[1] McNatty KP, Hillier SG, van den Boogaard AM, et al. Follicular development during the luteal phase of the human menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab 1983 ; 56 : 1022–31.
[2] Chikazawa K, Araki S, Tamada T. Morphological and endocrinological studies on follicular development during the human menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab 1986 ; 62 : 305–13.
[3] Templeton A, Morris JK. Reducing the risk of multiple births by transfer of two embryos after in vitro fertilization. N Engl J Med 1998 ; 339 : 573–7.
[4] Devreker F, Pogonici E, De Maertelaer V, et al. Selection of good embryos for transfer depends on embryo cohort size : implications for the 'mild ovarian stimulation' debate. Hum Reprod 1999; 14 : 3002–8.
[5] Neveu S, Hedon B, Bringer J, et al. Ovarian stimulation by a combination of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropins for in vitro fertilization. Fertil Steril 1987 ; 47 : 639–43.
[6] Frydman R, Parneix I, Belaisch-Allart J, et al. LHRH agonists in IVF : different methods of utilization and comparison with previous ovulation stimulation treatments. Hum Reprod 1988 ; 3 : 559–61.
[7] Meldrum DR. GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization. Obstet Gynecol Surv 1989 ; 44 : 314–6.
[8] Mais V, Cetel NS, Muse KN, et al. Hormonal dynamics during luteal-follicular transition. J Clin Endocrinol Metab 1987 ; 64 : 1109–14.
[9] Roseff SJ, Bangah ML, Kettel LM, et al. Dynamic changes in circulating inhibin levels during the luteal-follicular transition of the human menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab 1989 ; 69 : 1033–9.
[10] Brown JB. Pituitary control of ovarian function : concepts derived from gonadotrophin therapy. Aust N Z J Obstet Gynaecol 1978 ; 18 : 47–54.
[11] Van Weissenbruch MM, Schoemaker HC, Drexhage HA, Schoemaker J. Pharmaco-dynamics of human menopausal gonadotrophin (HMG) and follicle-stimulating hormone (FSH). The importance of the FSH concentration in initiating follicular growth in polycystic ovary-like disease. Hum Reprod 1993 ; 8 : 813–21.
[12] Van der Meer M, Hompes PGA, Scheele F, et al. Follicle stimulating hormone (FSH) dynamics of low dose step-up ovulation induction with FSH in patients with polycystic ovary syndrome. Hum Reprod 1994 ; 9 : 1612–7.
[13] Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human : a model from preliminary results. Hum Reprod 1986 ; 1 : 81–7.
[14] Gougeon A, Lefevre B. Evolution of the diameters of the largest healthy and atretic follicles during the human menstrual cycle. J Reprod Fertil 1983 ; 69 : 497–502.
[15] Reuss ML, Kline J, Santos R, et al. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. Am J Obstet Gynecol 1996 ; 174 : 624–7.
[16] Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, et al. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. Fertil Steril 1999 ; 72 : 845–51.
[17] Flaws JA, Langenberg P, Babus JK, et al. Ovarian volume and antral follicle counts as indicators of menopausal status. Menopause 2001 ; 8 : 175–80.
[18] Erdem A, Erdem M, Biberoglu K, et al. Age-related changes in ovarian volume, antral follicle counts and basal FSH in women with normal reproductive health. J Reprod Med 2002 ; 47 : 835–9.

[19] Chow GE, Criniti AR, Soules MR. Antral follicle count and serum follicle-stimulating hormone levels to assess functional ovarian age. Obstet Gynecol 2004 ; 104 : 801–4.

[20] Klein NA, Battaglia DE, Fujimoto VY, et al. Reproductive aging : accelerated ovarian follicular development associated with a monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal older women. J Clin Endocrinol Metab 1996 ; 81 : 1038–45.

[21] Klein NA, Harper AJ, Houmard BS, et al. Is the short follicular phase in older women secondary to advanced or accelerated dominant follicle development ? J Clin Endocrinol Metab 2002 ; 87 : 5746–50.

[22] van Zonneveld P, Scheffer GJ, Broekmans FJ, et al. Do cycle disturbances explain the age-related decline of female fertility ? Cycle characteristics of women aged over 40 years compared with a reference population of young women. Hum Reprod 2003 ; 18 : 495–501.

[23] Santoro N, Isaac B, Neal-Perry G, et al. Impaired folliculogenesis and ovulation in older reproductive aged women. J Clin Endocrinol Metab 2003 ; 88 : 5502–9.

[24] Roy SK, Wang SC, Greenwald GS. Radioreceptor and autoradiographic analysis of FSH, hCG and prolactin binding sites in primary to antral hamster follicles during the periovulatory period. J Reprod Fertil 1987 ; 79 : 307–13.

[25] Tonetta SA, DiZerega GS. Intragonadal regulation of follicular maturation. Endocr Rev 1989 ; 10 : 205–29.

[26] Hillensjo T, Bergh C, Carlsson B, et al. Growth factors - normal follicular development. In : Sjoberg NO, Hamberger L, Janson PO, editors. Local regulation of ovarian function. Carnforth : Parthenon Publishing ; 1992. p. 89–96.

[27] Erickson GF. The ovarian connection. In : Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z, editors. Reproductive endocrinology, surgery, and technology. Philadelphia : Lippincott-Raven ; 1996. p. 1141–60.

[28] Fauser BC. Interference with follicle-stimulating hormone regulation of human ovarian function. Mol Hum Reprod 1996 ; 2 : 327–34.

[29] McNatty KP, Moore-Smith D, Makris A, et al. The microenvironment of the human antral follicle : interrelationships among the steroid levels in antral fluid, the population of granulosa cells, and the status of the oocyte in vivo and in vitro. J Clin Endocrinol Metab 1979 ; 49 : 851–60.

[30] Chappel SC. Heterogeneity of follicle-stimulating hormone : control and physiological function. Hum Reprod Update 1995 ; 1 : 479–87.

[31] Ulloa-Aguirre A, Midgley AR, Beitins IZ, Padmanabhan V. Follicle-stimulating isohormones : characterization and physiological relevance. Endocr Rev 1995 ; 16 : 765–87.

[32] Harlow CR, Shaw HJ, Hillier SG, Hodges JK. Factors influencing follicle-stimulating hormone-responsive steroidogenesis in marmoset granulosa cells : effects of androgens and the stage of follicular maturity. Endocrinology 1988 ; 122 : 2780–7.

[33] Hall JE, Bhatta N, Adams JM, et al. Variable tolerance of the developing follicle and corpus luteum to gonadotropin-releasing hormone antagonist-induced gonadotropin withdrawal in the human. J Clin Endocrinol Metab 1991 ; 72 : 993–1000.

[34] Fauser BC, Van Heusden AM. Manipulation of human ovarian function : physiological concepts and clinical consequences. Endocr Rev 1997 ; 18 : 71–106.

[35] Droesch K, Muasher SJ, Brzyski RG, et al. Value of suppression with a gonadotropin-releasing hormone agonist prior to gonadotropin stimulation for in vitro fertilization. Fertil Steril 1989 ; 51 : 292–7.

[36] Lejeune B, Barlow P, Puissant F, et al. Use of buserelin acetate in an in vitro fertilization program ; a comparison with classical clomiphene citrate-human menopausal gonadotropin treatment. Fertil Steril 1990 ; 54 : 475–81.

[37] Abdalla HI, Ahuja KK, Leonard T, et al. Comparative trial of luteinizing hormone-releasing hormone analog/human menopausal gonadotropin and clomiphene citrate/human menopausal gonadotropin in an assisted conception program. Fertil Steril 1990 ; 53 : 473–8.

[38] van de-Helder AB, Helmerhorst FM, Blankhart A, et al. Comparison of ovarian stimulation regimens for in vitro fertilization (IVF) with and without a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist : results of a randomized study. J In Vitro Fert Embryo Transfer 1990 ; 7 : 358–62.

[39] Polson DW, MacLachlan V, Krapez JA, et al. A controlled study of gonadotropin-releasing hormone agonist (buserelin acetate) for folliculogenesis in routine in vitro fertilization patients. Fertil Steril 1991 ; 56 : 509–14.

[40] Maroulis GB, Emery M, Verkauf BS, et al. Prospective randomized study of human menotropin versus a follicular and a luteal phase gonadotropin-releasing hormone analog-human menotropin stimulation protocol for in vitro fertilization. Fertil Steril 1991 ; 55 : 1157–64.

[41] Hughes EG, Fedorkow DM, Daya S, et al. The routine use of gonadotropin releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer : a meta-analysis of randomized controlled trials. Fertil Steril 1992 ; 58 : 888–96.

[42] Tan SL, Kingsland C, Campbell S, et al. The long protocol of administration of gonadotropin-releasing hormone agonist is superior to the short protocol for ovarian stimulation for in vitro fertilization. Fertil Steril 1992 ; 57 : 810–4.

[43] Ron-El R, Herman A, Golan A, et al. Ultrashort gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) protocol in comparison with the long-acting GnRH-a protocol and menotropin alone. Fertil Steril 1992 ; 58 : 1164–8.

[44] Cramer DW, Powers DR, Oskowitz SP, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist use in assisted reproduction cycles : the influence of long and short regimens on pregnancy rates. Fertil Steril 1999 ; 72 : 83–9.

[45] Tavmergen E, Goker EN, Sendag F, et al. Comparison of short and long ovulation induction protocols used in ART applications according to the ovarian response and outcome of pregnancy. Arch Gynecol Obstet 2002 ; 266 : 5–11.
[46] Daya S. Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles. Cochrane Database Syst Rev 2000 ; 2 : CD001299.
[47] Borm G, Mannaerts B. Treatment with the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone is effective, safe and convenient : results of a controlled, randomized, multicentre trial. The European Orgalutran Study Group. Hum Reprod 2000 ; 15 : 1490–8.
[48] Olivennes F, Ayoubi JM, Fanchin R, et al. GnRH antagonist in single-dose applications. Hum Reprod Update 2000 ; 6 : 313–7.
[49] Al-Inany H, Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction : a Cochrane review. Hum Reprod 2002 ; 17 : 874–85.
[50] Jones GS, De Moraes Ruehsen M, Johanson AJ, et al. Elucidation of normal ovarian physiology by exogenous gondaotropin stimulation following steroid pituitary suppression. Fertil Steril 1969 ; 20 : 14–34.
[51] Pujol-Amat P, Urgell-Roca JM, Maroquez-Ramirez M. The ovarian response to gonadotrophins after administration of an oral contraceptive. J Obstet Gynaecol Br Commonw 1971 ; 78 : 261–5.
[52] Frydman R, Forman R, Rainhorn JD, et al. A new approach to follicular stimulation for in vitro fertilization : programed oocyte retrieval. Fertil Steril 1986 ; 46 : 657–62.
[53] Patton PE, Burry KA, Wolf DP, et al. The use of oral contraceptives to regulate oocyte retrieval. Fertil Steril 1988 ; 49 : 716–8.
[54] Mashiach S, Dor J, Goldenberg M, et al. Protocols for induction of ovulation. The concept of programmed cycles. Ann N Y Acad Sci 1988 ; 541 : 37–45.
[55] Franco Junior JG, Baruffi RL, Mauri AL, et al. Semi-programmed ovarian stimulation as the first choice in in-vitro fertilization programmes. Hum Reprod 1995 ; 10 : 568–71.
[56] Gonen Y, Jacobson W, Casper RF. Gonadotropin suppression with oral contraceptives before in vitro fertilization. Fertil Steril 1990 ; 53 : 282–7.
[57] Branigan EF, Estes MA. Minimal stimulation IVF using clomiphene citrate and oral contraceptive pill pretreatment for LH suppression. Fertil Steril 2000 ; 73 : 587–90.
[58] Lindheim SR, Barad DH, Witt B, et al. Short-term gonadotropin suppression with oral contraceptives benefits poor responders prior to controlled ovarian hyperstimulation. J Assist Reprod Genet 1996 ; 13 : 745–7.
[59] Schoolcraft W, Schlenker T, Gee M, et al. Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone flare, growth hormone protocol. Fertil Steril 1997 ; 67 : 93–7.
[60] Biljan MM, Mahutte NG, Dean N, et al. Effects of pretreatment with an oral contraceptive on the time required to achieve pituitary suppression with gonadotropin-releasing hormone analogues and on subsequent implantation and pregnancy rates. Fertil Steril 1998 ; 70 : 1063–9.
[61] Surrey ES, Bower J, Hill DM, et al. Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist flare regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril 1998 ; 69 : 419–24.
[62] Leondires MP, Escalpes M, Segars JH, et al. Microdose follicular phase gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) compared with luteal phase GnRH-a for ovarian stimulation at in vitro fertilization. Fertil Steril 1999 ; 72 : 1018 2.
[63] de Ziegler D, Jaaskelainen AS, Brioschi PA, et al. Synchronization of endogenous and exogenous FSH stimuli in controlled ovarian hyperstimulation (COH). Hum Reprod 1998 ; 13 : 561–4.
[64] Fanchin R, Salomon L, Castelo-Branco A, et al. Luteal estradiol pre-treatment coordinates follicular growth during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH antagonists. Hum Reprod 2003 ; 18 : 2698–703.
[65] Fanchin R, Cunha-Filho JS, Schonauer LM, et al. Coordination of early antral follicles by luteal estradiol administration provides a basis for alternative controlled ovarian hyperstimulation regimens. Fertil Steril 2003 ; 79 : 316–21.
[66] Gonen Y, Balakier H, Powell W, Casper RF. Use of GnRH agonist to trigger follicular maturation for in vitro fertilization. J Clin Endocrinol Metab 1990 ; 71 : 918–22.
[67] Fanchin R, Castelo Branco A, Kadoch IJ, et al. Premenstrual administration of gonadotropin-releasing hormone antagonist coordinates early antral follicle sizes and sets up the basis for an innovative concept of controlled ovarian hyperstimulation. Fertil Steril 2004 ; 81 : 1554–9.
[68] Andersen CY, Andersen KV. Improving the luteal phase after ovarian stimulation : reviewing new options. Reproductive Biomedecine Online 2014 ; 28 : 552–9.
[69] Itskovitz J, Boldes R, Levron J, et al. Induction of preovulatory luteinizing hormone surge and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome by gonadotropin-releasing hormone agonist. Fertil Steril 1991 ; 56 : 213–20.
[70] Andersen CY, Westergaard LG, Figenschau Y, et al. Endocrine composition of follicular fluid comparing human chorionic gonadotrophin to a gonadotrophin-releasing hormone agonist for ovulation induction. Hum Reprod 1993 ; 8 : 840–3.
[71] Acevedo B, Gomez-Palomares JL, Ricciarelli E, Hernandez ER. Triggering ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonists does not compromise embryo implantation rates. Fertil Steril 2006 ; 86 : 1682–7.

[72] Bodri D, Guillen JJ, Galindo A, et al. Triggering with human chorionic gonadotropin or a gonadotropin-releasing hormone agonist in gonadotropin-releasing hormone antagonist-treated oocyte donor cycles : findings of a large retrospective cohort study. Fertil Steril 2009 ; 91 : 365–71.
[73] Griesinger G, Kolibianakis EM, Papanikolaou EG, et al. Triggering of final oocyte maturation with gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin. Live birth after frozen-thawed embryo replacement cycles. Fertil Steril 2007 ; 88 : 616–21.
[74] Balasch J, Creus M, Fabregues F, et al. Hormonal profiles in successful and unsuccessful implantation in IVF-ET after combined GnRH agonist/gonadotropin treatment for superovulation and hCG luteal support. Gynecol Endocrinol 1995 ; 9 : 51–8.
[75] Druckmann R, Druckmann MA. Progesterone and the immunology of pregnancy. J Steroid Biochem Mol Biol 2005 ; 97 : 389–96.
[76] Simoncini T, Caruso A, Giretti MS. Effects of dydrogesterone and of its stable metabolite, 20-alpha-dihydrodydrogesterone, on nitric oxide synthesis in human endothelial cells. Fertil Steril 2006 ; 86 : 1235–42.
[77] Sladek SM, Magness RR, Conrad KP. Nitric oxide and pregnancy. Am J Physiol 1997 ; 272 : R441–63.
[78] Fanchin R, Righini C, Olivennes F, et al. Uterine contractions at the time of embryo transfer alter pregnancy rates after in-vitro fertilization. Hum Reprod 1998 ; 13 : 1968–74.
[79] Pouly JL, Grémeau AS, Boyer C, et al. La stimulation ovarienne. In : Éditions Med'com ; 2011. p. 93–102.
[80] Fauser BC, Devroey P. Reproductive biology and IVF : ovarian stimulation and luteal phase consequences. Trends Endocrinol Metab 2003 ; 14 : 236–42.
[81] Duffy DM, Stewart DR, Stouffer RL. Titrating luteinizing hormone replacement to sustain the structure and function of the corpus luteum after gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment in rhesus monkeys. J Clin Endocrinol Metab 1999 ; 84 : 342–9.
[82] Liu HC, Pyrgiotis E, Davis O, Rosenwaks Z. Active corpus luteum function at pre-, peri- and postimplantation is essential for a viable pregnancy. Early Pregnancy Biol Med 1995 ; 1 : 281–7.
[83] Mitwally MF, Diamond MP, Abuzeid M. Vaginal micronized progesterone versus intramuscular progesterone for luteal support in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. Fertil Steril 2010 ; 93 : 554–69.
[84] Ellenbogen A, Gidoni Y, Michaeli M, et al. Mid-luteal serum progesterone and estradiol levels as predictors of pregnancy in IVF-ET cycles : may increasing the dosage of progesterone supplementation improve the outcome ? Fertil Steril 2004 ; 82 : S205 (P201).
[85] Hull MG, Savage PE, Bromham DR, et al. The value of a single serum progesterone measurement in the midluteal phase as a criterion of a potentially fertile cycle ('ovulation') derived form treated and untreated conception cycles. Fertil Steril 1982 ; 37 : 355–60.
[86] Fauser BC, De Jong D, Loivennes F, et al. Endocrine profiles after triggering of final oocyte maturation with GnRH agonist after cotreatment with the GnRH antagonist Ganirelix during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. J Clin Endocrinol Metab 2002 ; 87 : 709–15.
[87] Levine H, Watson N. Comparison of the pharmacokinetics of Crinone 8 % administered vaginally versus Prometrium administered orally in postmenopausal women. Fertil Steril 2000 ; 73 : 516–21.
[88] Fatemi HM, Bourgain C, Donoso P, et al. Effect of oral administration of dydrogestrone versus vaginal administration of natural micronized progesterone on the secretory transformation of endometrium and luteal endocrine profile in patients with premature ovarian failure : a proof of concept. Human Reprod 2007 ; 22 : 1260–3.
[89] de Ziegler D, Seidler L, Scharer E, Bouchard P. Non-oral administration of progesterone : experiences and possibilities of the transvaginal route. Schweiz Rundsch Med Prax 1995 ; 84 : 127–33.
[90] Lightman A, Kol S, Itskovitz-Eldor J. A prospective randomized study comparing intramuscular with intravaginal natural progesterone in programmed thaw cycles. Hum Reprod 1999 ; 14 : 2596–9.
[91] Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment : a meta-analysis of the randomized trials. Hum Reprod 2002 ; 17 : 2287–99.
[92] Farhi J, Weissman A, Steinfeld Z, et al. Estradiol supplementation during the luteal phase may improve the pregnancy rate in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer cycles. Fertil Steril 2000 ; 73 : 761–6.
[93] Messinis IE, Bergh T, Wide L. The importance of human chorionic gonadotropin support of the corpus luteum during human gonadotropin therapy in women with anovulatory infertility. Fertil Steril 1988 ; 50 : 31–5.
[94] Kyrou D, Kolibianakis EM, Fatemi HM, et al. Increased live birth rates with GnRH agonist addition for luteal support in ICSI/IVF cycles : a systematic review and meta-analysis. Human Reprod Update 2011 ; 17 : 734–40.
[95] Şimşek E, Kılıçdağ EB, Aytaç PC, et al. Addition of gonadotropin releasing hormone agonist for luteal phase support in in-vitro fertilization : an analysis of 2739 cycles. J Turk Ger Gynecol Assoc 2015 ; 16 : 96–101.
[96] Groeneveld E, Broeze KA, Lambers MJ, et al. IPD MARIA study group : is aspirin effective in women undergoing in vitro fertilization (IVF) ? Results from an individual patient data meta-analysis (IPD MA). Human Reprod Update 2011 ; 17 : 501–9.
[97] Qublan H, Amarin Z, Dabbas M, et al. Low-molecular-weight heparin in the treatment of recurrent IVF-ET failure and thrombophilia : a prospective randomized placebo-controlled trial. Hum Fertil (Camb) 2008 ; 11 : 246–53.
[98] Bohlmann MK. Effects and effectiveness of heparin in assisted reproduction. J Reprod Immunol 2011 ; 90 : 82–90.

Stimulation des patientes « faibles répondeuses » en FIV

Chapitre 19

C. Tibi

Être amené à stimuler une patiente avec une faible réserve ovarienne dans le cadre de la fécondation *in vitro* (FIV) est une situation de plus en plus fréquente ces dernières années, en partie en raison de l'augmentation de l'âge moyen des patientes entrant en assistance médicale à la procréation (AMP), et cela pose plusieurs questions pas encore toutes résolues et souvent sujets de débats car le consensus n n'est pas la règle, en particulier pour les protocoles de stimulation et les études parfois contradictoires.

L'émergence des marqueurs de prédiction de la réponse ovarienne, hormone anti-müllerienne (*anti-mullerian hormone* ou AMH) et compte des follicules antraux (CFA), ainsi que les récentes définitions consensuelles de « faible répondeuse » rendent ce sujet d'une grande actualité.

Les critères de Bologne (consensus ESHRE) [1] réclament la présence de deux au moins des trois critères suivants :

- âge maternel supérieur ou égal à 40 ans ou tout autre facteur de réponse faible ;
- antécédent de faible réponse (obtention au maximum de trois ovocytes avec une stimulation dite standard) ;
- un résultat de test de réserve ovarienne anormal : CFA < 5–7 ou 0,5 < AMH < 1,1 ng/mL.

Les marqueurs de la réserve

L'AMH est très corrélée au nombre de follicules antraux et semble être le meilleur test de prédiction de la réponse ovarienne, meilleur que la FSH *(follicle-stimulating hormone)* [2] et que le CFA [3].

Cependant elle ne permet pas de prédire une grossesse en cycle spontané ou en FIV [4–6]. Les critiques sur la méthodologie et la variabilité des dosages Beckman 1 puis Beckman 2 avec intervention humaine de dilution semblent minorées avec les dosages récents automatisés (ex. : Cobas® Roche) au prix peut-être d'un manque de discrimination dans les valeurs basses ou de taux globalement plus bas d'environ 10 % [7]. L'AMH peut être dosée à tout moment du cycle avec une faible variation, sauf sous pilule ou blocage agoniste LHRH *(luteinizing hormone-releasing hormone)* où le taux peut être minoré. Les normes devraient être présentées par classes d'âge et non dans l'absolu.

Le dosage d'AMH, soit seul soit avec d'autres critères, permet l'ajustement de la dose de départ de gonadotrophines [8].

Le niveau d'AMH est corrélé au taux de grossesses en FIV chez les patientes de plus de 35 ans mais pas avant, ce qui indique que chez les patientes de moins de 35 ans, le niveau d'AMH seul ne devrait pas permettre d'exclure une patiente d'un programme de FIV [9].

Le compte folliculaire échographique est aussi un excellent élément d'orientation et de prédiction mais varie en fonction de l'opérateur et de la qualité du matériel échographique.

Ce marqueur ne peut prédire la qualité ovocytaire ou embryonnaire, ni l'issue de la tentative [10].

La FSH est beaucoup moins fiable pour la prédiction de réponse ovarienne, mais son taux élevé pourrait être davantage un indice de qualité que de quantité dans les réserves faibles. Un taux supérieur à 20 UI/L après 40 ans est très péjoratif.

Certains auteurs ne recommandent qu'un seul test, par exemple le CFA car équivalent au cumul des autres facteurs [11]. L'échographie reste un examen toujours pratiqué pour l'importance des renseignements autres qu'il apporte.

Pourquoi une femme a-t-elle une baisse de la réserve ovarienne ?

L'âge est en soi une cause physiologique de baisse de la réserve et c'est le facteur pronostique essentiel avec une diminution des résultats avec l'âge, constatée quel que soit le protocole [12, 13].

Mais viennent aussi les causes iatrogènes : chirurgie ovarienne et/ou d'endométriose, chimio- ou radiothérapie, antécédents d'embolisation utérine pour fibrome, endométriose même non opérée, maladies auto-immunes, tabagisme chronique, stérilités inexpliquées, certaines causes génétiques (mutations *FMR1*…).

Protocoles de stimulation

Les protocoles courts avec agonistes utilisent l'effet *flare-up* des agonistes lors des premiers jours de stimulation ; ils s'accompagnent de taux plus élevés de LH *(luteinizing hormone)*. Les microdoses d'agonistes semblent apporter un bénéfice en cas de faible réserve [14].

Les protocoles courts avec antagonistes, introduits de façon fixe à J6 ou flexible quand le follicule le plus gros atteint 14 mm ou si le taux d'œstradiol dépasse 400 pg/mL, permettent le plus souvent d'éviter les pics prématurés de LH [15].

De même certains protocoles ultracourts limitent l'utilisation de l'agoniste aux premiers jours de stimulation avec un effet bénéfique d'évaluation relative [16].

Les protocoles courts mixtes associent *flare-up* agoniste initial et introduction de l'antagoniste vers J6-J7 [17].

Les protocoles longs utilisent la freination préalable par agoniste et avec des microdoses chez la faible répondeuse [18, 19].

Le protocole naturel strict peut être pratiqué [20] ou plus souvent le protocole semi-naturel avec une stimulation dès J7 ou J8 par FSH ou hMG *(human menopausal gonadotropin)* associés à un antagoniste [21].

L'utilisation du clomifène associé aux gonadotrophines et aux antagonistes est parfois un dernier recours utile.

Choix du protocole de stimulation

Rien ne ressort de façon évidente des études et les résultats sont contradictoires d'autant que les publications s'appuient avant 2011 (consensus de Bologne) sur des définitions différentes des faibles répondeuses.

Globalement, comme l'indique une *Cochrane Review* de 2010 [22] les comparaisons des protocoles ne donnent pas de supériorité claire d'un protocole par rapport à un autre :

- la méta-analyse de Griesinger 2006 [23] montre une augmentation du nombre des ovocytes mais pas de significativité sur le plan des grossesses ;
- la méta-analyse de Franco en 2006 ne retrouve pas de différence entre agonistes et antagonistes [24] ;
- Prappas en 2013 sur un essai comparatif contrôlé de 330 patientes retrouve une augmentation des taux de grossesses par cycle avec les protocoles longs agonistes [25]. En cas de protocole long, il conviendrait d'éviter néanmoins les doses dépôts d'agoniste, ce qui diminue le risque de freination excessive, et de privilégier plutôt un début de freinage en phase lutéale, diminuant ainsi la formation de kystes fonctionnels [26] ;
- Hu *et al.* en 2014 ne retrouvent aucune incidence du protocole sur les résultats chez les faibles répondeuses sur 592 patientes répondant aux critères de Bologne [27] ;
- la méta-analyse de Xiao en 2013, regroupant 1332 cas, comparant les protocoles longs agonistes et les protocoles antagonistes ne retrouve pas de différence en termes de grossesse [28] avec légèrement plus d'ovocytes en protocole long ;
- les protocoles mixtes agonistes ultracourts plus antagonistes ne semblent pas montrer de supériorité [29] par rapport aux cycles antagonistes « simples » ;
- les protocoles naturels ou semi-naturels ont possiblement leur place chez les faibles répondeuses avec des résultats parfois équivalents : ils sont plus économiques et plus légers pour les patientes et leurs ovaires [30, 31] mais sont décevants pour d'autres [32] et probablement à éviter à partir de 38 ans [21].

Doses de gonadotrophines

La plupart des protocoles pour les faibles répondeuses utilisent des fortes doses de gonadotrophines de 300 à 450 UI/jour.

L'augmentation des doses de 300 à 450 UI/jour, même si elle est tentante dans certains cas, reste discutée et parfois contre-productive.

Récemment, la comparaison 450 et 600 UI/jour n'a pu montrer aucun bénéfice a l'augmentation de la dose [33].

De plus, certains ont attribué un risque à l'augmentation des doses en évoquant la possibilité d'une augmentation des aneuploïdies ovocytaires sous fortes doses [34]. Il faut peut-être relativiser cela en ce sens que les patientes qui nécessitent les plus fortes doses ont possiblement une augmentation des aneuploïdies liée au terrain ovarien « vieillissant » et pas seulement à la stimulation.

Type de gonadotrophines

Chez les faibles répondeuses, il n n'a pas été noté de différence significative entre uFSH, rFSH et hMG, mais certains auteurs [35, 36] ont suggéré que l'adjonction de rLH à la rFSH pouvait entraîner un bénéfice par rapport à la rFSH seule (augmentation relative de 30 % de taux de grossesses) dans ce sous-groupe, mais cela est controversé [37].

Les études sur la corifollitropin alpha sont débutantes chez les faibles répondeuses, mais pourraient tirer profit du pic de FSH précoce (2 jours) suite à son administration (contre 3 à 5 jours pour la rFSH ou uFSH) avec l'espoir d un recrutement meilleur.

Prétraitements

- Pilule œstroprogestative : elle diminuerait les résultats en cas de protocole antagoniste [38] ; elle semble inutile en protocole long, et peut parfois être utilisée pour la programmation des protocoles courts agonistes.
- Œstrogènes : la freination lutéale par 4 mg/j de 17-β-œstradiol *per os* débutée vers J24 avant le cycle de stimulation permettrait, en bloquant le pic prémenstruel de FSH, d'améliorer le recrutement et synchroniser la cohorte des follicules en protocole antagoniste avec de meilleurs résultats. Les antagonistes peuvent être poursuivis pendant la phase folliculaire [39]. Cet effet pourrait être reproduit par des antagonistes débutés en phase lutéale avant la stimulation, mais l'association prémenstruelle d'œstrogènes et d'antagonistes a aussi été proposée sans résultat probant [40].
- DHEA (déhydroépiandrostérone) : les études de Barad et Gleicher [41] ont évoqué la possibilité de l'efficacité d une administration préalable de 75 mg/j de DHEA pendant 2 à 6 mois pour améliorer la réponse ovarienne (étude avec conflits d'intérêts). Une large étude robuste multicentrique est nécessaire pour recommander largement son utilisation et d'autres études plus récentes ne retrouvent aucune efficacité de la DHEA [42].
- Testostérone : Kim *et al.* ont montré le rôle possiblement favorable d'un prétraitement par patchs de testostérone pendant 15 jours avec augmentation du nombre d'ovocytes et du taux de grossesses [43]. Des traitements plus prolongés seraient probablement intéressants dans les cas les plus difficiles.

Co-traitements

- Hormone de croissance : l'administration de GH *(growth hormone)* pendant la stimulation par FSH chez les faibles répondeuses a permis d'obtenir une meilleure réponse ovarienne et de meilleurs taux de grossesse [44], mais une actualisation récente de la méta-analyse ne retrouve pas de différence en termes de taux d'implantation [45].
- Aspirine : elle n'améliore pas le pronostic des mauvaises répondeuses [46].

Stratégies alternatives

Aucune stratégie n'est idéale ni supérieure à une autre, les taux de grossesses étant faibles et comparables entre protocoles. Il est logique de débuter par un protocole entraînant le moins de désagrément en sachant cependant alterner les propositions de traitement pour parfois trouver celui qui convient le mieux à la patiente.

La transformation de la tentative de FIV en IAC (insémination intra-utérine avec sperme du conjoint), au cours de réponse monofolliculaire et de stérilité à trompes normales, est une option en cas de réponse faible et rend l'annulation plus « supportable » tout en ajoutant une petite chance de grossesse après une stimulation coûteuse.

Ceci est intéressant si un seul follicule a été obtenu mais le taux de grossesses est meilleur pour le maintien de la ponction dès que l'on obtient deux follicules en stimulation [47] en particulier avant 40 ans.

Quel que soit le protocole, l'élévation du taux de progestérone au-dessus de 1,5 ng avant le déclenchement est retrouvée péjorative par la majorité des auteurs [48].

L'IAC de rattrapage 1 heure après une ponction blanche n n'est pas recommandée [49] car inefficace.

L'accumulation des embryons avec leur transfert groupé (frais et congelés) a donné des résultats intéressants. Plus récemment, l'accumulation d'ovocytes lors de ponctions successives (voire suite à une double stimulation folliculaire et lutéale : *Shangai protocol* [50]) est une nouvelle option permise par l'amélioration des techniques de vitrification ovocytaire, cela crée virtuellement, par l'augmentation du nombre des ovocytes mis en fécondation, une situation de réponse quasi normale.

Enfin, avant de passer en don d'ovocytes qui doit nécessiter une réflexion supplémentaire pour le couple (si cela n'a pas été fait au préalable, par une information précoce mais non directive), il serait souhaitable, hormis les cas avec facteur masculin sévère, d'avoir aussi éliminé par une cœlioscopie toute pathologie organique type endométriose légère (à exciser) ou adhérences (adhésiolyse) ou lésion tubaire distale type phimosis nécessitant dans le même temps une fimbrioplastie (sur sous-évaluation ou faux négatif de l'hystérosalpingogramme), ceci en particulier avant 43 ans.

Au total, chez ces patientes dites « faibles répondeuses », à moins bon pronostic global, l'on dispose néanmoins de multiples armes pour ne pas abandonner trop tôt des perspectives de grossesse en les informant d'emblée de leurs véritables chances et des alternatives.

La façon de présenter les résultats en taux par tentative ou en taux cumulatif aura indubitablement un impact important sur la décision du couple de poursuite ou d'abandon de l'AMP intracouple.

Références

[1] Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization : the Bologna criteria. Hum Reprod 2011 ; 26 : 1616–24.

[2] Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, et al. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization : a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. Fertil Steril 2005 ; 83 : 291–301.

[3] Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, et al. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. Hum Reprod Update 2006 ; 12 : 685–718.

[4] Broer SR, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF : comparison with the antral follicle count. Fertil Steril 2009 ; 91 : 705–14.

[5] van Rooij IA, Broekmans FJ, Hunault CC, et al. Use of ovarian reserve tests for the prediction of ongoing pregnancy in couples with unexplained or mild male infertility. Reprod Biomed Online 2006; 12 : 182–90.

[6] Reichman DE, Goldsclag D, Rozenwaks Z. Value of antimüllerian hormone as a pronostic indicator of in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 2014; 101 : 1012–8.

[7] Nelson SM, Pastuszek E, Kloss G, et al. Two new automated, compared with two enzyme-linked immunosorbent, antimüllerian hormone assays. Fertil Steril 2015 jul 14.

[8] La Marca A, Papaleo E, Grisendi V, et al. Developpement of a nomogram based on markers of ovarian reserved for the individualisation of the follicle-stimulating hormone starting dose in in vitro fertilization cycles. BJOG 2012; 119 : 1171–9.

[9] Tibi C, Pessah C, Amar E, et al. AMH et prédiction des résultats en FIV ; 2014. Communication poster no 69 FFER septembre.

[10] Melo MA, Garrido N, Alvarez C, et al. Antral follicle count (AFC) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the in vitro fertilization outcome in an egg donation program. J Fertil Steril 2009 ; 91 : 148–56.

[11] Verhagen TE, Hendriks DJ, Bancsi LF, et al. The accuracy of multivariate models predict in ovarian reserve and pregnancy after in vitro fertilization : a meta-analysis. Hum Reprod Update 2008 ; 14 : 95–100.

[12] FIVNAT, Bellaisch-Allart J, de Mouzon J, et al. Âge et PMA. Contracept Fertil Sex 1997 ; 25 : 746–56.

[13] Sunkara SK, Coomarasamy A, Faris R, et al. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment, an analysis of 400135 treatment cycles. Human Reprod 2011 ; 26 : 1768–74.

[14] Detti L, Williams DB, Robins JC, et al. A comparison of three down regulation approaches for poor responders undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril 2005 ; 84 : 1401–5.

[15] Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, et al. The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation. Hum Reprod Update 2002 ; 8 : 279–90.

[16] Faber BM, Mayer J, Cox B, et al. Cessation of gonadotropin-releasing hormone agonist therapy combined with high-dose gonadotropin stimulation yields favorable pregnancy results in low responders. Fertil Steril 1998 ; 69 : 826–30.
[17] Berger BM, Ezcurra D, Alper MM. The agonist-antagonist protocol : a novel protocol for treating the poor responder. Fertil Steril 2004 ; 82 : 216.
[18] Feldberg D, Fahri J, Ashkenazi H, et al. Minidose gonadotropin-releasing hormone agonist is the treatment of choice in poor responders with high FSH levels. Fertil Steril 1994 ; 62 : 343–6.
[19] Olivennes F, Righini C, Fanchin R, et al. A protocol using a low dose of gonadotropin-releasing hormone agonist might be the best protocol for patients with high FSH concentrations on day 3. Hum Reprod 1996 ; 11 : 1169–72.
[20] Nargund G, Waterstone J, Bland JM, et al. Cumulative conception and live birth rates in natural (unstimulated) IVF cycles. Hum Reprod 2001 ; 16 : 259–62.
[21] Castelo-Branco A, Frydman N, Kadoch J, et al. The role of the semi natural cycle as option of treatment of patients with a poor prognosis for successful in vitro fertilization. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2004 ; 33 : 518–24.
[22] Pandian Z, McTavish AR, Aucott L, et al. Interventions for 'poor responders' to controlled ovarian hyper stimulation (COH) in in-vitro fertilisation (IVF). Cochrane Database Syst Rev 2010 ; 1.
[23] Griesinger G, Diedrich K, Tarlatzis BC, Kolibianakis EM. GnRH antagonists in ovarian stimulation for IVF in patients with poor response to gondotrophins, polycystic ovary syndrome, and risk of ovarian hyperstimulation. A meta-analysis. Reprod Biomed Online 2006 ; 13 : 628–38.
[24] Franco JG, Baruffi RL, Mauri AL, et al. GnRH agonist versus GnRH antagonist in poor ovarian responders : a meta-analysis. Reprod Biomed Online 2006 ; 13 : 618–27.
[25] Prapas Y, Petousis S, Dagklis T, et al. GnRH antagonist versus long GnRH agonist protocol in poor IVF responders : a randomized clinical trial. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2013 ; 166 : 43–6.
[26] Albuquerque LE, Saconato H, Maciel MC, et al. Depot versus daily administration of GnRH agonist protocols for pituitary desensitization in assisted reproduction cycles : a Cochrane Review. Hum Reprod 2003 ; 18 : 2008–17.
[27] Hu L, Bu Z, Guo Y, et al. Comparison of different ovarian hyperstimulation protocols efficacy in poor ovarian responders according to the Bologna criteria. Int J Clin Exp Med 2014 ; 7 : 1128–34.
[28] Xiao J, Chang S, Chen S. The effectiveness of gonadotropin-releasing hormone antagonist in poor ovarian responders undergoing in vitro fertilization : a systematic review and meta-analysis. Fertil Steril 2013 ; 100 : 1594–601.
[29] Çelik Gİ, Sütçü HK, Akpak YK, Akar ME. A flexible multidose GnRH antagonist versus a microdose flare-uUp GnRH agonist combined with a flexible multidose GnRH antagonist protocol in poor responders to IVF. Biomed Res Int 2015 ; 2015 : 970163.
[30] Schimberni M, Morgia F, Colabianchi J, et al. Natural-cycle in vitro fertilization in poor responder patients : a survey of 500 consecutive cycles. Fertil Steril 2009 ; 92 : 1297–301.
[31] Revelli A, Chiadò A, Dalmasso P, et al. "Mild" vs. "long" protocol for controlled ovarian hyperstimulation in patients with expected poor ovarian responsiveness undergoing in vitro fertilization (IVF): a large prospective randomized trial. J Assist Reprod Genet 2014 ; 31 : 809–15.
[32] Kolibianakis E, Zikopoulos K, Camus M, et al. Modified natural cycle for IVF does not offer a realistic chance of parenthood in poor responders with high day 3 FSH levels, as a last resort prior to oocyte donation. Hum Reprod 2004 ; 19 : 2545–9.
[33] Haas J, Zilberberg E, Machtinger R, et al. Do poor-responder patients benefit from increasing the daily gonadotropin dose during controlled ovarian hyperstimulation for IVF ? Gynecol Endocrinol 2015 ; 31 : 79–82.
[34] Baart EB, Martini E, Eijkemans MJ, et al. Milder ovarian stimulation for in-vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo : a randomized controlled trial. Hum Reprod 2007 ; 22 : 980–8.
[35] Hill MJ, Levy G, Levens ED. Does exogenous LH in ovarian stimulation improve assisted reproduction success ? An appraisal of the literature. Reprod Biomed Online 2012 ; 24 : 261–71.
[36] Lehert P, Kolibianakis EM, Venetis CA, et al. Recombinant human follicle-stimulating hormone (r-hFSH) plus recombinant luteinizing hormone versus r-hFSH alone for ovarian stimulation during assisted reproductive technology: systematic review and meta-analysis. Reprod Biol Endocrinol 2014 ; 12 : 17.
[37] Fan W, Li S, Chen Q, et al. Recombinant luteinizing hormone supplementation in poor responders undergoing IVF : a systematic review and meta-analysis. Gynecol Endocrinol 2013 ; 29 : 278–84.
[38] Griesinger G, Venetis CA, Marx T, et al. Oral contraceptive pill pretreatment in ovarian stimulation with GnRH antagonists for IVF : a systematic review and meta-analysis. Fertil Steril 2008 ; 90 : 1055–63.
[39] Chang EM, Han JE, Won HJ, et al. Effect of estrogen priming through luteal phase and stimulation phase in poor responders in in-vitro fertilization. J Assist Reprod Genet 2012 ; 29 : 225–30.
[40] Elassar A, Nulsen J, Engmann L, Benadiva C. Estradiol and antagonist pretreatment prior to microdose leuprolide in in vitro fertilization. Does it improve IVF outcomes in poor responders as compared to oral contraceptive pill ? J Reprod Med 2015 ; 60 : 199–204.
[41] Gleicher N, Barad DH. Dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation in diminished ovarian reserve (DOR). Reprod Biol Endocrinol 2011 ; 9 : 67.
[42] Yeung TW, Chai J, Li RH, et al. A randomized, controlled, pilot trial on the effect of dehydroepiandrosterone on ovarian response markers, ovarian response, and in vitro fertilization outcomes in poor responders. Fertil Steril 2014 ; 102 : 108–15.

[43] Kim CH, Howles CM, Lee HA. The effect of transdermal testosterone gel pretreatment on controlled ovarian stimulation and IVF outcome in low responders. Fertil Steril 2011 ; 95 : 679–83.
[44] Kolibianakis EM, Venetis CA, Diedrich K, et al. Addition of growth hormone to gonadotrophins in ovarian stimulation of poor responders treated by in-vitro fertilization : a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update 2009 ; 15 : 613–22.
[45] Yu X, Ruan J, He LP, et al. Efficacy of growth hormone supplementation with gonadotrophins in vitro fertilization for poor ovarian responders : an updated meta-analysis. Int J Clin Exp Med 2015 ; 8 : 4954–67.
[46] Päkkilä M, Räsänen J, Heinonen S, et al. Low-dose aspirin does not improve ovarian responsiveness or pregnancy rate in IVF and ICSI patients : a randomized, placebo-controlled double-blind study. Hum Reprod 2005 ; 20 : 2211–4.
[47] Quinquin M, Mialon O, Isnard V, et al. In vitro fertilization versus conversion to intrauterine insemination in Bologna-criteria poor responders : how to decide which option ? Fertil Steril 2014 ; 102 : 1596–601.
[48] Orvieto R, Nahum R, Meltzer S, et al. GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation : the role of elevated peak serum progesterone levels. Gynecol Endocrinol 2013 ; 29 : 843–5.
[49] Matorras R, Aparicio V, Corcostegui B, et al. Failure of intrauterine insemination as rescue treatment in low responders with adequate HCG timing with no oocytes retrieved. Reprod Biomed Online 2014 ; 29 : 634–9.
[50] Kuang Y, Chen Q, Hong Q, et al. Double stimulations during the follicular and luteal phases of poor responders in IVF/ICSI programmes (Shanghai protocol). Reprod Biomed Online 2014 ; 29 : 684–91.

Comment éviter les hyperstimulations ?

Chapitre 20

S. Fay, P. Oger, S. Pereylevade, J.-M. Ayoubi

Comme toute thérapeutique médicale, les traitements de stimulations ovariennes peuvent être à l'origine de nombreux effets secondaires et donc comporter certains risques. L'hyperstimulation ovarienne (HSO) secondaire aux injections de gonadotrophines est recherchée lors d'un protocole de fécondation *in vitro* (FIV) afin d'obtenir un nombre important d'ovocytes et donc d'embryons. Cependant, le principal risque est qu'elle devienne non contrôlée, complication dont l'incidence varie entre 3 et 6 %, avec une forme sévère dans 0,1 à 3 % des cas. L'HSO sévère est une complication iatrogène pouvant engager le pronostic vital (taux de mortalité estimé à 3/100 000) [1]. C'est une complication qui reste rare, mais qu'il est indispensable d'éviter pour toute patiente qui démarre un protocole de stimulation ovarienne.

Quelle est la physiopathologie ?

Afin d'éviter cette complication redoutable, il est utile d'en rappeler la physiopathologie. L'HSO non contrôlée survient dans la plupart des cas après une stimulation ovarienne quotidienne par des gonadotrophines exogènes et un déclenchement de l'ovulation par hCG *(human chorionic gonadotropin)*, protocoles utilisés en routine en vue d'une FIV ou insémination intra-utérine [1]. Des cas exceptionnels ont été rapportés lors de grossesses spontanées chez des patientes porteuses d'une mutation du récepteur de la FSH *(follicle-stimulating hormone)*, altérant sa spécificité, ou encore en cas de môle hydatiforme. L'HSO peut être précoce (dans les 7 jours après l'injection d'hCG) ou tardive (au-delà), plus grave, souvent secondaire au phénomène de lutéinisation (avec grossesse dans 95 % des cas).

Le mécanisme principal est une augmentation de la perméabilité capillaire à l'origine d'une extravasation des liquides vers le secteur extravasculaire, entraînant la formation d'un troisième secteur (péritoine, plèvre et péricarde) avec un ou plusieurs épanchements des séreuses [2]. Sur le plan clinique, la gêne peut aller d'une simple distension abdominale à des signes francs d'épanchement abdominal (prise de poids rapide, augmentation du périmètre abdominal, nausées, vomissements, subocclusion), péricardique (tachycardie) ou pleural (dyspnée, à l'extrême syndrome de détresse respiratoire aigu). Cette extravasation de liquide riche en protéines s'associe à une déplétion volémique intravasculaire, donc une hémoconcentration et une hypovolémie à l'origine d'une hypotension orthostatique, une tachycardie, une oligurie, voire une anurie et une insuffisance rénale fonctionnelle. Des phénomènes thrombo-emboliques secondaires à une activation plaquettaire par action du VEGF *(vascular endomethelial growth factor)* sont également à craindre. Plusieurs classifications sur la gravité des HSO ont été proposées. Retenons celle de Humaidan (tableau 20.1).

Les principales molécules à l'origine de ce phénomène doivent réunir plusieurs conditions pour initier l'HSO. Parmi elles, un taux d'œstradiol élevé (et surtout une élévation rapide en cours de stimulation) est un facteur de risque, mais non un facteur déclenchant isolé. Par contre, l'hCG et la LH *(luteinizing hormone)* sont des facteurs déclenchants, en particulier l'hCG qui se fixe sur les mêmes récepteurs que la LH mais avec une affinité 6 fois plus élevée [1, 3]. Le VEGF semble être le facteur essentiel. Il s'agit d'une cytokine angio-

Tableau 20.1 Classification des HSO selon Humaidan et *Practice Committee of the American Society for Reproductive Medecine.*

HSO	Forme légère	Forme modérée	Forme sévère
Douleurs abdominales	Faibles	Modérées	Intenses
Nausées, vomissements	±	±	±
Diarrhées	±	±	±
Ascite sous tension	Non	Non	Oui
Oligoanurie	Non	Non	Oui
Dyspnée	Non	±	Oui
Hyperleucocytose/mm^3	< 15 000	15–25 000	> 25 000
Hématocrite	< 45 %	45–55 %	> 55 %
Cytolyse hépatique	Non	±	Oui
Hyponatrémie	Non	Non	Oui
Hyperkaliémie	Non	Non	> 5 mmol/L
Ascite à l'échographie	Cul-de-sac de Douglas	Dépasse l'utérus	Loge de Morrisson
Taille des ovaires	9–12 cm	> 12 cm	> 12 cm
Épanchement pleural	Non	Non	Oui

génique hCG-dépendante, produite par les cellules de la granulosa lutéinisées [4]. Ses récepteurs se situent au niveau des endothéliums et des follicules ovariens. Le VEGF augmente la perméabilité vasculaire, stimule la prolifération des cellules endothéliales et la néo-angiogenèse particulièrement au niveau de l'ovaire. Il entraîne ainsi une réduction du gradient osmotique à l'origine du passage extravasculaire. Le VEGF et ses récepteurs sont augmentés dès la phase de stimulation ovarienne par les gonadotrophines. Un pic est observé 48 heures après l'injection d'hCG en particulier au niveau des vaisseaux ovariens [5]. Le VEGF est ainsi reconnu comme étant le principal acteur, mais le mécanisme exact de son activation et de sa régulation reste à définir. D'autres médiateurs (tels que l'angiotensine II, l'interleukine 6, le système rénine–angiotensine) ont également été incriminés dans ce processus pathologique [5].

Quelles sont les patientes à risque ?

Afin d'éviter la survenue de cette complication, il est important de dépister les facteurs de risque, bien que dans 33 % des cas, l'HSO peut survenir sans qu'aucun n'ait été identifié [1].

Avant la stimulation ovarienne

Plusieurs critères doivent nous alerter et ainsi orienter le choix du protocole et les doses de gonadotrophines à administrer. La population cible est souvent constituée de patientes jeunes de moins de 30 ans, dont le bilan de réserve ovarienne peut nous alerter. L'AMH *(anti-mullerian hormone)* et le compte des follicules antraux sont en effet considérés comme des marqueurs quantitatifs de la réponse ovarienne à la stimulation. Un taux élevé d'AMH (> 7 ng/mL) et/ou de follicules antraux (> 20) est un facteur de risque d'HSO [6, 7]. Ces patientes présentent souvent un syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) qui est d'ailleurs le principal facteur de risque [7] : le recrutement folliculaire en cours de stimulation est souvent excessif, malgré des doses moindres de gonadotrophines et un monitorage rigoureux. Ceci induit une élévation rapide du taux d'œstradiol, qui est lui-même à l'origine d'un excès de production de VEGF. Le seuil d'AMH serait abaissé à 3,36 ng/mL chez les patientes n'ayant pas de SOPK associé [8].

Les patientes présentant des facteurs de risque thrombo-emboliques sont également une population à risque, mais les études se contredisent. Il semblerait que l'HSO chez ces patientes soit alors plus sévère [9]. D'autres facteurs de risque seraient

incriminés comme l'hypothyroïdie, un terrain allergique, le polymorphisme du récepteur à la FSH. L'index de masse corporel ne semble pas ici avoir d'impact [1, 6].

En cours de stimulation ovarienne

Les agonistes de la GnRH *(gonadotropin-releasing hormone)* sont souvent à l'origine d'une HSO chez les patientes à risque, car ils empêchent l'atrésie folliculaire en inhibant les montées prématurées de LH et en permettant ainsi un recrutement multifolliculaire [1].

Le taux d'œstradiol le jour du déclenchement (très variable selon les études, entre 3000 et 4500 pg/mL) semble finalement jouer peu de rôle dans l'HSO. C'est un bon marqueur de l'activité ovarienne et l'augmentation rapide de son taux est un signal d'alerte. Mais attention, ce taux est à pondérer en fonction du protocole de blocage choisi : il est moins élevé lors de l'utilisation d'antagonistes, ce qui peut être faussement rassurant.

Le nombre de follicules matures mais surtout intermédiaires (plus de 13 follicules entre 11 et 15 mm) le jour du déclenchement [10] et le nombre d'ovocytes ponctionnés (> 20, voire 30) [11] représentent des facteurs prédictifs d'HSO. D'autres équipes tiennent plutôt compte du nombre de follicules en croissance au 8e ou 9e jour de la stimulation devenant à risque si plus de 14 follicules sont supérieurs à 12 mm [6, 12].

Comment l'éviter ?

La discussion sur les facteurs de risque est très liée à celle de la prévention de l'HSO. En effet, toute la difficulté est l'équilibre à trouver pour obtenir une réponse ovarienne optimale tout en prévenant l'HSO.

Avant la stimulation

Le choix du protocole est essentiel. Chez les patientes à risque, l'utilisation des antagonistes de la GnRH (cétrorélix, ganirelix) est le protocole de choix [10, 13]. L'antagoniste est introduit, soit en systématique à partir du 6e jour de la stimulation, soit dès qu'un ou plusieurs follicules mesurent plus de 13 mm, puis il est maintenu quotidiennement jusqu'au jour du déclenchement. Les antagonistes présentent plusieurs avantages : ils ont une double action de blocage au niveau hypophysaire et ovarien, en bloquant la FSH et la LH endogènes sans avoir l'effet *flare-up* des agonistes. Le risque d'HSO serait abaissé, il y aurait moins d'annulation de cycles pour réponse excessive. Enfin, ce protocole est le seul qui permette de modifier le déclenchement en utilisant une injection d'agoniste, ce qui réduit nettement le risque d'HSO.

Par ailleurs, les doses de gonadotrophines doivent être d'emblée abaissées chez les patientes à risque. Les protocoles recommandés sont du type *step-up low doses* avec des doses initiales de gonadotrophines réduites de moitié. Cependant, certaines patientes font une HSO malgré les faibles doses administrées.

Chez les patientes présentant un SOPK, on peut envisager :

- une maturation *in vitro* (MIV) qui permet de réaliser une ponction ovocytaire après une stimulation ovarienne minime et donc d'éviter tout risque d'HSO. Cependant, il s'agit d'une technique encore peu utilisée et les taux de grossesses sont moindres ;
- un *drilling* ovarien (multiperforation ovarienne), particulièrement aux patientes qui ont déjà fait une HSO, diminuant ainsi le risque de récidive en cas de nouvelle FIV [14] ;
- l'ajout de metformine (500 mg 3 fois/jour, débuté avant la stimulation ovarienne), antidiabétique oral, dont le bénéfice sur l'ovulation mais surtout sur l'incidence des HSO a largement été démontré [15].

En cours de stimulation ovarienne

Le *coasting* consiste à réduire les doses de gonadotrophines, voire les arrêter, tout en poursuivant le blocage par agoniste ou antagoniste. Il vise à obtenir l'atrésie partielle et contrôlée des follicules intermédiaires et pouvoir ainsi reporter le déclenchement jusqu'à l'obtention d'un seuil d'œstradiol acceptable. On peut maintenir la ponction si l'œstradiol ne baisse pas de plus de 50 %. Le risque est l'atrésie folliculaire avec baisse du nombre d'ovocytes matures, d'embryons de bonne qualité et donc du taux de grossesses. Le *coasting* ne doit

donc pas dépasser 3 jours, sinon la congélation des embryons est préconisée [16].

Le report du transfert embryonnaire par vitrification des ovocytes ou des embryons est une option qui pourrait être proposée quand le risque d'HSO en fin de stimulation est majeur. Cependant, seules les HSO tardives provoquées par une grossesse sont évitées. Il est à noter aussi que le risque d'HSO tardives ne semble pas plus élevé quand la grossesse est gémellaire [17].

Le déclenchement par agonistes de la GnRH chez les patientes à risque d'HSO en cours de protocole antagoniste semble être le moyen le plus efficace. En effet, le déclenchement « classique » par l'hCG 10 000 UI, ou même 5000 UI, entraîne une élévation importante du taux d'œstradiol, de progestérone et de VEGF, à l'origine de l'HSO chez ces patientes à risque. Rappelons aussi que la durée de vie de l'hCG est de plus de 6 jours. Itstovitz a montré l'aptitude d'une injection d'agoniste de GnRH (deux ampoules de 0,1 mg de triptoreline) à générer une décharge endogène de FSH et LH (effet *flare-up* 24 à 36 h après l'injection d'agoniste) mimant le pic physiologique ovulatoire et permettant la maturation ovocytaire [18]. La chute rapide de LH postovulatoire réduit significativement la production de VEGF et donc le risque d'HSO. Cependant, malgré le support renforcé en phase lutéale par ajout de progestérone et d'œstrogène, le taux de grossesses évolutives reste inférieur avec un taux de fausses couches supérieur, évoquant un défaut endométrial hostile à l'implantation embryonnaire, dû à une carence de LH [19]. C'est la raison pour laquelle l'association d'une injection de 1500 UI d'hCG 1 heure après la ponction ovocytaire est maintenant largement utilisée [10, 12, 20]. De plus, une intensification des doses quotidiennes de progestérone et d'œstrogène est également nécessaire, traitement à poursuivre jusqu'à 8 semaines de grossesse. Ce protocole est variable selon les équipes : de 0,1 à 0,3 mg d'œstradiol dermique et 50 mg de progestérone en intramusculaire ou 600 mg par voie intravaginale [10, 20]. Grâce à ce soutien modifié de la phase lutéale, on obtient un nombre équivalent d'ovocytes matures, d'embryons et de grossesses en diminuant significativement les HSO, sans cependant les éviter totalement.

L'utilisation de la cabergoline (Dostinex 0,5 mg/jour à partir du déclenchement, 8 jours) est également proposée en prophylaxie dans la prévention des HSO. Il s'agit d'un agoniste dopaminergique qui induit une déphosphorilation du récepteur au VEGF, donc une diminution de la perméabilité vasculaire [21].

Enfin, l'annulation du cycle sans déclenchement de l'ovulation est la seule méthode de prévention ayant prouvé son efficacité, mais la dernière option à choisir car évidemment très mal vécu par le couple.

Quelles sont les modalités de prise en charge des HSO ?

Il n'existe pas actuellement de recommandation pour la prise en charge des HSO. Le traitement dépend de la sévérité de l'HSO (voir tableau 20.1). Il est essentiellement symptomatique et préventif d'éventuelles complications. La surveillance fait partie intégrante de la prise en charge car l'HSO peut s'aggraver rapidement.

Dans les formes légères, un suivi en ambulatoire est suffisant avec une surveillance bihebdomadaire clinique (état général, poids, douleurs) et échographique (épanchement, taille des ovaires).

Les HSO modérées peuvent également bénéficier du même suivi, avec une surveillance biologique en cas de perturbations biologiques débutantes, modérées. L'hospitalisation est souvent indiquée au moins à la phase initiale, pendant quelques jours. Les bases de la prise en charge sont le repos au lit, les antalgiques, les anti-émétiques si nécessaire, les bas de contention, une anticoagulation à doses préventives (héparine de bas poids moléculaire 40 mg/jour en sous-cutané) pendant 6 semaines, une alimentation hyperprotéinée, une restriction hydrique limitée de 1 à 1,5 litre/jour afin de ne pas aggraver l'hémoconcentration. Une réhydratation par voie veineuse par du sérum physiologique (500 cc/jour) permet de maintenir la tension artérielle et la diurèse en corrigeant l'hypovolémie et l'hypoperfusion rénale.

La surveillance quotidienne doit être rigoureuse. Cliniquement, on note les constantes, le poids, le périmètre abdominal, la diurèse avec un bilan entrées/sorties, les douleurs, l'apparition d'une dyspnée ou de signes évocateurs d'une thrombose veineuse. Un bilan biologique

quotidien est nécessaire, ainsi qu'une échographie pelvienne en cas de majoration des douleurs.

La prise en charge et la surveillance des formes sévères sont identiques avec le traitement des complications surajoutées, ce qui nécessite parfois une hospitalisation en unité de soins intensifs.

Conclusion

L'HSO est une complication iatrogène de la stimulation ovarienne, d'une potentielle gravité. Sa prévention doit rester la priorité. De nombreux facteurs de risque ont été identifiés qui doivent nous alerter, mais rappelons que l'HSO peut survenir dans un cas sur trois sans qu'aucun facteur de risque n'ait été dépisté. Aucune prévention n'est réellement efficace, hormis l'annulation du cycle sans déclenchement. La poursuite des efforts de recherche sur cette pathologie nous permettra de mieux en comprendre la physiopathologie et donc d'être plus efficaces sur les moyens de l'éviter.

Références

[1] Delvigne A. Symposium : update on prediction and management of OHSS. Epidemiology of OHSS. Reprod Biomed Online 2009 ; 19 : 33–42.
[2] Geva E, Jaffe RE. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. Fertil Steril 2000 ; 74 : 429–38.
[3] Soares SR, Gómez R, Simón C, et al. Targeting the vascular endothelial growth factor system to prevent ovarian hyperstimulation syndrome. Hum Reprod Update 2008 ; 14 : 321–33.
[4] Neulen J, Yan Z, Raczk S. Human chorionic gonadotrophin-dependant expression of vascular endothelium growth factor/vascular permeability factor in human granulose cells : importance in ovarian hyperstimulation syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1995 ; 30 : 1967–71.
[5] Pellincer A, Albert C, Mercander A. The pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome : in vitro studies investigating the role of interleukin-1β, interleuk-6 and vascular endothelial growth factor. Fertil Steril 1999 ; 71 : 482–9.
[6] Navot D, Relou A, Birkenfeld A, et al. Risk factors and prognostic variables in the ovarian hyperstimulation syndrome. Am J Obstet Gynecol 1988 ; 159 : 210–5.
[7] Pigny P, Merlen E, Robert Y, et al. Elevated serum level of anti-müllerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome : relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. J Clin Endocrinol Metab 2003 ; 88 : 5957–62.
[8] Lee TH, Liu CH, Huang CC, et al. Serum anti-Müllerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. Hum Reprod 2008 ; 23 : 160–7.
[9] Dulitzky M, Cohen SB, Inbal A, et al. Increased prevalence of thrombophilia among women with severe ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil Steril 2002 ; 77 : 463–7.
[10] Griffin D, Benadiva C, Kummer N. Dual trigger of oocyte maturation with gonadotropin-releasing hormone agonist ant low-dose human chorionic gonadotropin to optimize live birth rates in high responders. Fertil Steril 2012 ; 97 : 1316–20.
[11] Asch RH, Li HP, Balmaceda JP, et al. Severe ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproductive technology : definition of high risk groups. Hum Reprod 1991 ; 6 : 1395–9.
[12] Radesic B, Tremellen K. Oocyte maturation employing a GnRH agonist in combinaison with low-dose hCG luteal rescue minimizes the severity of ovarian hyperstimulation syndrome while maintening excellent pregnancy rates. Hum Reprod 2011 ; 26 : 3467. 42.
[13] Devroey P, Aboulghar M, Garcia-Velasco J, et al. Improving the patient's experience of IVF/ICSI : a proposal for an ovarian stimulation protocol with GnRH antagonist co-treatment. Hum Reprod 2009 ; 24 : 764–74.
[14] Rimington MR, Walker SM, Shaw RW. The use of laparoscopic ovarian electrocautery in preventing cancellation of in-vitro fertilization treatment cycles due to risk of ovarian hyperstimulation syndrome in women with polycystic ovaries. Hum Reprod 1997 ; 12 : 1443–7.
[15] Tso LO, Costello MF, Albuquerque LE. Metformin treatment before and during IVF or ICSI in women with polycystic ovary syndrome. Cochrane Database Syst Rev 2014 ; 11.
[16] García-Velasco JA, Isaza V, Quea G, et al. Coasting for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome : much ado about nothing ? Fertil Steril 2006 ; 85 : 547–54.
[17] De Neubourg D, Mangelschots K, Van Royen E. Singleton pregnancies are as affected by ovarian hyperstimulation syndrome as twin pregnancy. Fertil Steril 2004 ; 82 : 1691–3.
[18] Itskovitz-Eldor J, Kol S, Mannaerts B. Use of a single bolus of GnRH agonist triptorelin to trigger ovulation after GnRH antagonist ganirelix treatment in women undergoing ovarian stimulation for assisted reproduction with special reference to the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome : preliminary report : short communication. Hum Reprod 2000 ; 15 : 1965–8.
[19] Humaidan P, Bredkjaer H, Bungum L, et al. GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cyces : a prospective randomized study. Hum Reprod 2005 ; 20 : 1213–20.

[20] Humaidan P, Kol S. GnRH agonist for triggering of final oocyte maturation : time for a change practice ? Hum Reprod 2011 ; 17 : 510–24.

[21] Youssef MA, van Wely M, Hassan MA. Can dopamine agonist reduce the incidence and severity of OHSS in IVF/ICSI treatment cycles ? A systematic review and meta-analysis. Hum Reprod 2010 ; 16 : 459–66.

Recueil ovocytaire

Chapitre 21

C. Rongieres, O. Pirrello

Utilisée depuis presque 30 ans, la ponction sous échographie transvaginale est le standard pour la ponction ovocytaire (figure 21.1) [1–3].

L'amélioration des appareils d'échographie et l'apport de matériels performants et adaptés (aiguilles fines, appareil d'aspiration continu, suivi de la chaîne du chaud) permettent de récupérer la grande majorité des ovocytes dans des follicules mûrs aussi bien qu'immatures, sans les abîmer [4]. Les modes d'anesthésie sont divers et ne seront pas présentés ici.

Il existe cependant une volonté de tous les praticiens au cours de la ponction ovocytaire, d'être le plus performant possible c'est-à-dire de recueillir des ovocytes matures fécondables et surtout de ne pas en perdre.

Il y a une corrélation entre la taille des follicules et la maturité ovocytaire. Il y a également un *timing* précis à respecter entre le déclenchement et la ponction.

La ponction ovocytaire sous échographie endovaginale peut être un geste douloureux et potentiellement à risque infectieux et hémorragique. Cependant la gestion de la douleur est différemment maîtrisée selon les centres.

Le *flushing* des follicules ou « rinçage des follicules » s'est développé dans le but d'augmenter le rendement du recueil des ovocytes. L'évolution du matériel avec l'apparition d'aiguilles double lumière du même diamètre que les aiguilles simple lumière ont permis de simplifier cette procédure.

Nous terminerons sur les complications liées à la ponction ovocytaire puisqu'il existe un risque d'infections patentes ainsi que d'hémorragies graves, mais celles qui nécessitent un traitement antibiotique ou une reprise chirurgicale sont rares comme nous le verrons.

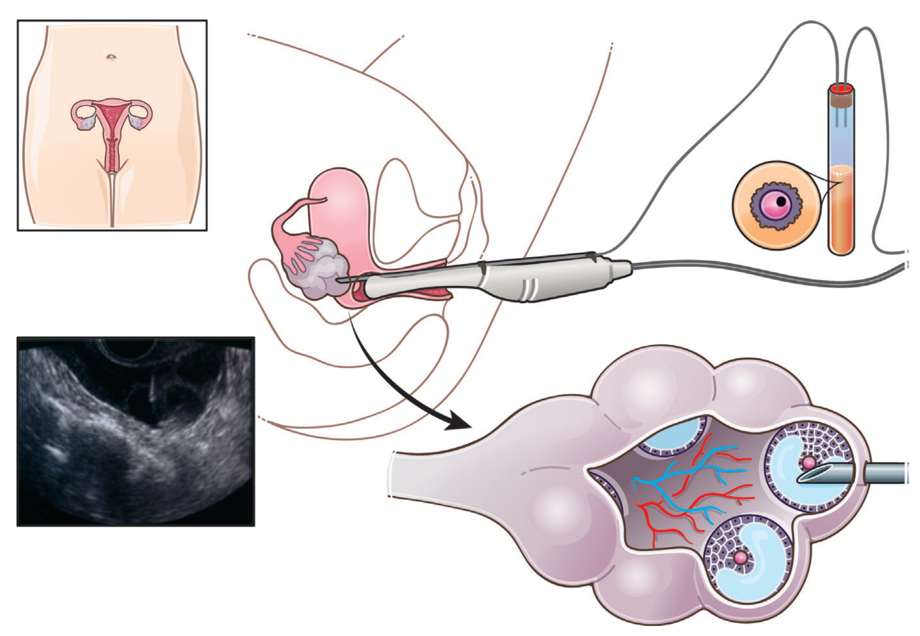


Figure 21.1 Schéma d'une ponction ovocytaire endovaginale.

Temps de latence entre déclenchement et ponction ovocytaire

Dans la préparation de cycles en vue d'une fécondation *in vitro* (FIV) ou d'une *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI), une hyperstimulation ovarienne est effectuée pour recruter les follicules. Cependant, il arrive souvent que les follicules n'évoluent pas de la même façon et qu'ils soient, de fait, de diamètre différent. Ainsi, au moment de la ponction ovocytaire, cette variation coïncide avec la maturité des ovocytes recueillis. Il existe une corrélation positive entre la taille du follicule et la maturité ovocytaire connue depuis longtemps [5, 6]. La littérature a suggéré que les follicules de plus de 12 mm correspondent à des résultats significativement plus élevés en termes de taux de fécondation et de clivage [7, 8]. Certains considèrent que la taille du follicule est le meilleur facteur prédictif de la maturation ovocytaire en FIV [9]. Néanmoins la mesure échographique de la taille folliculaire présente une forte variation inter et intra-observateurs, ce qui rend l'interprétation de l'examen et la décision du moment du déclenchement discutable [10].

Les résultats des différentes études varient en ce qui concerne le temps idéal entre le déclenchement et la ponction. Quelques études ont montré que la longueur du temps de latence n'augmentait pas le nombre d'ovocytes matures ou les taux de grossesses [11, 12], à l'inverse d'autres études ont trouvé que plus le décalage était grand, plus il y avait production d'ovocytes matures associée à une optimisation des paramètres de réussite [13, 14]. Une très récente étude s'est intéressée à l'intervalle de temps entre le déclenchement par hCG *(human chorionic gonadotropin)* et la ponction ovocytaire allant de 33 h à 38 h. La quantité de cycles étudiés n'est probablement pas suffisante mais l'on voit très bien sur le tableau 21.1 que plus le temps est long, plus le nombre d'ovocytes matures est grand. La définition du moment du déclenchement est plus discutable et peut entraîner un biais puisqu'il est défini comme étant l'acquisition d'au moins deux follicules de plus de 17 mm mais à partir de là, rien ne définit le moment du déclenchement (voir tableau 21.1).

Les auteurs recommandent un temps de latence minimum de 35 h entre le déclenchement et la ponction d'ovocytes, bien que les résultats ne soient pas compromis si cela doit se faire plus tôt. Cependant, il serait prudent d'adopter une politique qui maximise les pourcentages d'ovocytes matures qui doivent être un plus pour les patientes en particulier celles qui répondent faiblement. Il est important de se laisser une marge pour l'horaire de la ponction de 35 à 39 h après le déclenchement. Si l'activité du centre est importante, il faudra prévoir un échelonnement des déclenchements pour garder cet écart [15].

Hygiène autour de la ponction ovocytaire

Il n'existe pas réellement de *guidelines* précises et documentées sur la ponction ovocytaire et les précautions à prendre autour de l'hygiène de la femme et de la sonde. Si la ponction ovocytaire se fait comme il se doit au sein d'un bloc opératoire, il est recommandé d'imposer à la patiente une douche préalable à la Bétadine®, bien qu'aucune étude n'en ait montré son intérêt dans ce cadre précis. La désinfection vaginale est en générale effectuée en France le plus souvent par de la Bétadine® [16] qu'il est nécessaire de rincer avant ponction car celle-ci est toxique pour les ovocytes. Certains pays européens n'effectuent aucune désinfection vaginale préalable sans augmentation *a priori* des risques infectieux.

La sonde endovaginale doit être au mieux protégée par une protection non stérile de type préservatif ou protège sonde. Dans les recommandations issues de l'Agence de la biomédecine (ABM), il n'existe aucune précision en ce qui concerne l'hygiène de la sonde endovaginale. Des systèmes de désinfection rapide ont été mis en place permettant en 2 minutes un nettoyage autant efficace que protecteur pour la sonde, la protection n'étant *a priori* pas suffisante [17]. Ce système a un coût et n'est, malheureusement pas utilisé de façon systématique. Pourtant il assure une sécurité sanitaire tout en préservant la sonde d'autres types de désinfection plus agressive.

Tableau 21.1 Suivi des ovocytes recueillis en fonction du temps de latence entre déclenchement et ponction ovocytaire.

Résultats des traitements					
Paramètres	**Groupe 1 (n = 122) 33,45 h à 34,44 h**	**Groupe 2 (n = 222) 34,45 h à 35,44 h**	**Groupe 3 (n = 131) 35,45 h à 36,44 h**	**Groupe 4 (n = 36) 36,45 h à 38,25 h**	**Valeur *P***
Moy. d'ovocytes ponctionnés (médiane)	9,0 ± 6,2 [8]	9,5 ± 7,1 [7]	9,7 ± 6,9 [9]	11,5 ± 8,2 [9]	NS
Moy. ovocytes en ICSI (médiane)	8,1 ± 5,1 [8]	8,8 ± 6,4 [7]	9,3 ± 7,0 [8]	11,2 ± 8,2 [8,5]	NS
Moy. ovocytes MII ou Meta II (médiane)	5,0 ± 3,9[a] [4]	6,2 ± 4,9 [5]	6,4 ± 5,6 [5]	7,6 ± 6,0[a] [6]	0,0396
Taux de MII (%)	61,6 ± 27,9[b] [65]	70,9 ± 27,2[b] [78]	66,4 ± 26,9 [69]	70,4 ± 20,6 [69]	0,01
Cycles avec > de 70 % de MII (médiane)	48 (39)[c]	134 (60)[c]	62 (47)	18 (50)	0,0017
Moy. ovocytes injectés (médiane)	5,7 ± 3,8 [5]	6,6 ± 4,9 [5]	6,6 ± 5,6 [6]	7,8 ± 5,9 [6,5]	NS
Moy. ovocytes fécondés (médiane)	4,5 ± 3,2 [4]	5,1 ± 4,4 [4]	5,2 ± 4,7 [4,5]	6,0 ± 5,1 [5]	NS
Taux de fécondation (%)	77,8 ± 23,6 [80]	72,5 ± 26,8 [78]	73,7 ± 27,3 [80]	75,4 ± 25,3 [81]	NS
Moy. d'embryons transférés (médiane)	1,8 ± 0,7 [2]	1,6 ± 0,9 [2]	1,7 ± 0,8 [2]	1,7 ± 0,9 [2]	NS
Test de grossesse positif (%)	40 (33)	69 (31)	40 (31)	12 (33)	NS
Grossesses cliniques (%)	34 (28)	60 (27)	36 (27)	12 (33)	NS

Note : les valeurs sont des moyennes +/– ET (médiane) ou nombre (pourcentage).
Comparaison par paire : [a] $P = 0,0073$, [b] $P = 0,0013$; [c] $P = 0,0002$.
Moy. : moyenne.
Source : Weiss A et al. *Lag time from ovulation trigger to oocyte aspiration and oocyte maturity in assisted reproductive technology cycles : a retrospective study.* Fertil Steril *2014; 102 : 419-23.*

Analgésie ou anesthésie pour une ponction ovocytaire

La ponction ovocytaire implique le passage par voie transvaginale d'une aiguille de ponction et une aspiration des follicules un par un. Bien que le geste soit techniquement facile, il peut être douloureux soit au passage de l'aiguille à travers la paroi vaginale, soit à la ponction un par un des follicules sur des ovaires mobiles, à distance de la paroi vaginale ou simplement distendu par l'hyperstimulation ovarienne les rendant de fait plus sensibles. Évidemment, la quantité de follicules à ponctionner est proportionnelle à l'augmentation du risque de la douleur et des complications. Il existe assez peu d'études qui clarifient la meilleure méthode d'analgésie pour une ponction.

On peut recourir à :

- une anesthésie générale le plus souvent sous propofol (Diprivan®) ;
- une anesthésie locale par bloc paracervical de xylocaïne en général à 10 h, 2 h, 4 h et 8 h si on veut être exhaustif ;
- une anesthésie topique par gel de xylocaïne par voie intravaginale ou par un traitement antalgique combiné : antidouleur comme le néfopam (Acupan®) ou association tramadol–paracétamol (Ixprim®).

Une revue de 2013 de la *Cochrane Database* n'arrive pas sur 21 études sélectionnées [18] à

extraire un quelconque bénéfice d'une anesthésie par rapport à une autre et l'hétérogeneité de ces études ne permet pas de conclure.

Les différentes comparaisons sont déclinées comme suit :

- sédation et anagelsie *versus* placebo ;
- sédation et analgésie *versus* d'autres actions efficaces ;
- sédation et bloc paracervical *versus* d'autres actions efficaces ;
- sédation et analgésie *patient controlled versus physician controlled* ;
- sédation et analgésie avec différents dosages ou molécules.

Au final, les auteurs concluent que l'expérience de la douleur varie selon les individus et doit être individualisé en fonction des patientes et de leur médecin en prenant en compte les ressources disponibles. Un minimum de sédation et une analgésie permettent facilement et à moindre coût de diminuer la douleur sans avoir recours à une anesthésie générale qui nécessite la présence d'un anesthésiste. Ces différentes méthodes semblent acceptables et sont associées à un haut degré de satisfaction des patientes (tableaux 21.2 et 21.3).

Faut-il *flusher* les follicules ?

Au cours des deux dernières décennies, la ponction ovocytaire transvaginale est devenue le gold standard pour récupérer les ovocytes. Le raffinement des aiguilles a optimisé le nombre d'ovocytes ponctionnés [19].

Les aiguilles double lumière étaient censées récupérer les ovocytes potentiellement retenus dans le follicule en diminuant l'espace mort lié à la longueur de l'aiguille et la tubulure, avec un canal pour l'aspiration et un canal pour rincer le follicule. Ainsi le rinçage ne repousse pas dans le follicule un ovocyte qui serait coincé dans l'aiguille. Le bénéfice théorique de ces aiguilles double lumière était que le *flushing* de ces follicules devait maximiser la probabilité de récupérer un ovocyte qui aurait été autrement perdu [20]. Ce concept, longtemps soutenu par des études non randomisées, a été mis à mal par des études randomisées qui ont toutefois échoué à démontrer cet avantage [21, 22]. En 2012, une méta-analyse reprenait les 29 résumés d'études dont seulement neuf articles ont été conservés et six présentaient des études randomisées. Ces études incluaient

Tableau 21.2 Sédation consciente + bloc paracervical versus d'autres interventions. Score de la douleur au cours de l'intervention par l'échelle de visualisation analogique (EVA).

	Sédation consciente + bloc para-cervical			Autres			Odds Ratio	Odds Ratio	Odds Ratio
Étude ou sous-groupe d'étude	Moy.	ET	Total	Moy.	ET	Total	Poids	M-H, fixé, 95 % CI	M-H, fixé, 95 % CI
Sédation consciente + bloc para-cervical versus électro-acupuncture + bloc para-cervical									
Gejervall 2005	2,98	2,34	80	4,85	2,68	78	11,9 %	–1,87 [–2,66 ; –1,08]	
Humaidan 2004	1,8	1,7	100	2,6	1,8	100	31,2 %	–0,80 [–1,29 ; –0,31]	
Stener-Victorin 1999	2,66	2,2	74	3,01	1,94	75	16,5 %	–0,35 [–1,02 ; 0,32]	
Stener-Victorin 2003	2,64	1,83	138	2,96	1,77	136	40,4 %	–0,32 [–0,75 ; 0,11]	
Sous-total (95 % CI)			**392**			**389**	**100,0 %**	**–0,66 [–0,93 ; –0,39]**	

Moy. : moyenne ; ET : écart-type.
Hétérogénéité : Chi^2 = 12,72, df = 3 (P = 0,005) ; I^2 =76 %
Test sur effet global : Z = 4,77 (P < 0,00001)
Source : Kwan I, Bhattacharya S, Knox F, McNeil A. Pain relief for women undergoing oocyte retrieval for assisted reproduction. Cochrane Database of Systematic Reviews 2013 ; 1 : CD004829.

Tableau 21.3 Sédation contrôlée par le patient versus sédation contrôlée par le médecin. Score de la douleur au cours de l'intervention par l'échelle de visualisation analogique (EVA).

	Sédation par le patient			Sédation par le médecin			Odds Ratio	Odds Ratio	Odds Ratio
Étude ou sous-groupe d'étude	**Moy.**	**ET**	**Total**	**Moy.**	**ET**	**Total**	**Poids**	**M-H, fixé, 95 % CI**	**M-H, fixé, 95 % CI**
Sédation et analgésie : contrôlé par le patient vs contrôlé par le médecin									
Bhattacharya 1997	3,85	1,98	39	4,61	2,13	42	23,6 %	–0,76 [–1,66 ; 0,14]	
Lok 2002	5,3	2,3	51	3,5	2,4	55	23,7 %	1,80 [0,91 ; 2,69]	
Thompson 2000	4,68	3,47	57	3,44	2,13	55	16,8 %	1,24 [0,18 ; 2,30]	
Zelcer 1992	2,9	1,8	40	2,5	1,5	40	35,9 %	0,40 [–0,33 ; 1,13]	
Sous-total (95 % CI)			**187**			**192**	**100,0 %**	**0,60 [0,16 ; 1,03]**	
									–20 –10 0 10 20 Favours patient Favours physician

Hétérogénéité : $Chi^2 = 17{,}46$, df = 3 (P = 0,0006) ; $I^2 = 83$ %
Test sur effet global : Z = 2,69 (P = 0,007)
Source : Kwan I, Bhattacharya S, Knox F, McNeil A. Pain relief for women undergoing oocyte retrieval for assisted reproduction. Cochrane Database of Systematic Reviews 2013 ; 1 : CD004829.

au total 518 patientes avec une randomisation entre aspiration directe avec une aiguille simple lumière sans *flush versus* un flush folliculaire avec une aiguille double lumière. Une seule étude était effectuée chez des patientes mauvaises répondeuses définies comme ayant moins de huit follicules de 12 mm le jour de l'hCG (tableau 21.4) [23].

Les résultats de cette méta-analyse n'ont pas montré de bénéfice à la ponction ovocytaire avec *flushing*. Par contre le *flushing* était associé à une augmentation de la durée de la ponction. Les auteurs concluent qu'il serait toutefois intéressant d'avoir des études randomisées sur l'utilité du *flushing* folliculaire en cas de patientes mauvaises répondeuses, de cycles naturel ou de *mild-stimulation*. Effectivement, le fait de *flusher* le follicule en cas de FIV en cycle semi-naturel avait déjà été considéré comme une évidence pour éviter les échecs de recueils [24, 25].

Dans une étude de 2013 sur 164 cycles [26], les auteurs ont regardé l'intérêt du *flush* sur des cycles monofolliculaires obtenus soit en cycle naturel, soit par des cycles stimulés par du citrate de clomifène (25 mg/j du 6e jour à l'induction de l'ovulation) soit par des cycles stimulés par de l'hMG à 75 unités. Seuls les cycles avec un seul follicule étaient analysés. Après l'aspiration initiale, les follicules étaient *flushés* trois fois avec 2 mL de milieu de culture hépariné. La fécondation était obtenue par la technique d'ICSI. Les auteurs concluent que trois *flushing* doublent non seulement le nombre d'ovocytes récupérés mais aussi le taux de transferts. Ces résultats indiquent premièrement que le *flush* peut augmenter le rendement du nombre d'ovocytes et que les ovocytes récupérés par le *flush* sont autant matures et fécondables que ceux récupérés sans *flush*, dans le cas de stimulation monofolliculaire (tableau 21.5).

Dans un autre registre, l'équipe de Rozenwaks [27] reprenait une étude randomisée chez des patientes mauvaises répondeuses définies par quatre follicules de 12 mm ou moins le jour de l'hCG. Le déclenchement était décidé quand il y avait un à deux follicules égaux ou supérieurs à 17 mm. La ponction était effectuée 35 h après.

Au final, seulement 25 patientes ont été randomisées dans chaque bras, ce qui est très peu différent du nombre de patientes incluses dans la première étude de ce type de Levens.

Les résultats de cette étude randomisée non seulement ne montrent pas de bénéfice au *flushing* folliculaire mais mettent en évidence un effet délétère sur l'implantation et les taux de grossesses. Les auteurs concluent qu'il faut faire preuve de prudence quant

à l'utilisation du *flush* folliculaire chez les mauvaises répondeuses et qu'il est nécessaire d'avoir d'autres études pour évaluer l'intérêt de cette technique chez ces patientes difficiles. Il faut tout de même être critique avant de généraliser ce résultat de Rosenwack. En effet, non seulement l'effectif de 25 patientes

Tableau 21.4 Méta-analyse du *flushing* ovocytaire.

Author	Sample size	Measure (CI)	Weight %
Haines *et al.*, 1989	294	1.05 (0.61 ; 1.79)	4.2
Scott *et al.*, 1989	412	1.08 (0.72 ; 1.63)	7.25
Tan *et al*,. 1992	1433	1.12 (0.87 ; 1.44)	18.35
Levens *et al*,. 2008	245	0.86 (0.43 ; 1.71)	2.83
Hayd. *et al.*, 2011	4608	1.05 (0.92 ; 1.2)	67.37
Synthesis	**6992**	**1.06 (0.95 ; 1.18)**	

0.25 0.5 1 2
Favours flushing Favours non-flushing

Source : Levy G, *et al.* The use of follicle flushing during oocyte retrieval in assisted reproductive technologies : a systematic review and meta-analysis *Human Reproduction* 2012 ; 27 : 2373-9.

Tableau 21.5 Qualité des ovocytes issus de stimulation monofolliculaire suite à trois *flushs* consécutifs.

	FIV en monofolliculaire			
Ponctions, n	164			
Moyenne d'âge, ans ± ET	37,0 ± 3,8 (28–45)			
Taille folliculaire moyenne, mm ± ET	19,0 ± 2,1			
Total des ovocytes/ponction, n	132/164			
Total des ovocytes /ponction, %	80,5			
	Ponction	**1er flush**	**2e flush**	**3e flush**
Ovocytes/groupe/ponction, n	73/164	34/1645	17/164	7/164
Ovocytes/groupe/ponction, %	44,5	20,7	10,4	4,3
Ovocytes MII/ovocytes recueillis, n	67/73	31/34	16/17	7/7
Ovocytes MII/ovocytes recueillis, %	91,8	91,2	94,1	100
Ovocytes fécondés/ovocytes MII, n	33/67	16/31	10/16	4/7
Ovocytes fécondés/ovocytes MII, %	49,3	51,6	62,5	57,1
Ovocytes fécondés/ovocytes recueillis, n	33/73	16/34	10/17	4/7
Ovocytes fécondés/ovocytes recueillis, %	45,2	47,1	58,8	57,1
Taux de transfert/groupe/ponction, n	33/164	16/164	10/164	4/164
Taux de transfert/groupe/ponction, %	20,1	9,8	6,1	2,4
Taux de transfert total/groupe/ponction, n	63/164			
Taux de transfert total/groupe/ponction, %	38,4			

est faible, mais les résultats de 36 % de grossesses par cycle débuté chez des patientes de 39 ans avec une AMH *(anti-mullerian hormone)* à 0,4 ne correspondent pas à ce que nous pouvons retrouver habituellement. De plus, il y avait significativement (p = 0,03) plus d'embryons transférés dans le groupe non-*flush* que dans le groupe *flush* (2,5 *versus* 1,7) (figure 21.2).

Une étude randomisée sur 260 patientes « mauvaises répondeuses », définies par moins de cinq follicules de 14 mm, est en cours dans notre centre depuis 2011 (étude déclarée sous NCT01329302). Ce travail devrait pouvoir donner un résultat suffisamment puissant quant à l'intérêt du *flushing* chez la mauvaise répondeuse, l'objectif principal étant de vérifier que le nombre d'ovocytes recueillis est supérieur dans le groupe *flush*.

Pour finir, une étude récente [28] a voulu déterminer la corrélation entre taille folliculaire, maturité ovocytaire, taux de fécondation, de clivage et de qualité embryonnaire et d'établir si les ovocytes issus de *flush* se comportaient différemment dans leur développement. Sur 47 cycles soit 360 follicules mesurés, leurs résultats indiquent qu'il y a significativement beaucoup plus d'ovocytes recueillis sur des follicules de plus de 18 mm au moment de la ponction, ce qui équivaut à des follicules de 16 mm au moment du déclenchement. Les follicules de plus de 18 mm contiennent également plus d'ovocytes matures avec un taux élevé de fécondation. Toutefois des follicules de moins de 15 mm obtiennent aussi une fécondation normale. Cela permet une augmentation appréciable d'embryons de bonne qualité (tableau 21.6).

Comme dans les anciennes études, le *flushing* folliculaire améliore la récolte ovocytaire par follicule et le *flushing* des petits follicules augmente aussi le nombre total d'ovocytes. Ils ont aussi trouvé que ces ovocytes ne diminuent pas le taux de maturité de la cohorte et les embryons qui en sont issus gardent un potentiel de développement équivalent à une aspiration directe.

Complications du recueil ovocytaire

Les complications de la ponction ovocytaire restent rares. Une étude en 2006 [29] sur plus de 1000 ponctions avait retrouvé une faible incidence. En reprenant la littérature, ce sont les saignements et les infections qui sont le plus souvent rencontrés. L'incidence des saignements allait de 0,1 à 0,5 %

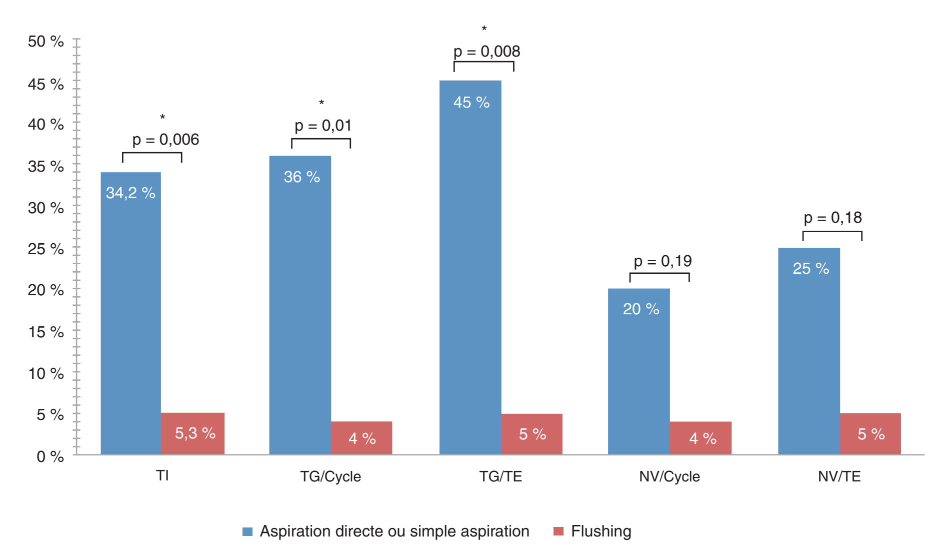


Figure 21.2 Implantation, grossesse et naissances vivantes parmi les patients mauvaises répondeuses entre aspiration directe et *flushing*.

TI : taux moyen d'implantation ; TG/Cycle : taux de grossesse clinique par cycle ; TG/TE : taux de grossesse clinique par transfert ; NV/Cycle : naissance vivante par cycle ; NV/TE : naissance vivante par transfert.

Source : Mok-Lin E, et al. *Follicular flushing and in vitro fertilization outcomes in the poorest responders : a randomized controlled trial.* Human Reproduction *2013 ; 28 : 2990-5.*

(tableau 21.7), celle des infections allant de 0,01 à 1 %. Les patientes les plus exposées sont celles qui sont porteuses d'endométriose ou d'hydrosalpinx d'origine infectieuse (tableau 21.8). Sur une série plus récente de 7098 cycles [30] de FIV, les auteurs retrouvent quatre patientes avec un saignement intrapéritonéal sévère et deux patientes avec des abcès pelviens, ce qui correspond dans leur série à 0,08 % de complications sévères.

La littérature offre de multiples *case-reports* allant des plaies digestives ou urinaires aux complications neurologiques, des sacro-illites

Tableau 21.6 Corrélation entre la taille des follicules *flushés* ou non *flushés* et leur devenir.

Groupe	Nombre total d'ovocytes	VG	MI	MII	Taux de fécondation	Anomalies ou absence de fécondation	Taux de clivage
Flushés	68	0	4	64 (94 %)	64 %	35 %	72 %
Non flushés	94	4	5	85 (90 %)	60 %	40 %	77 %

Le flush ne montre pas d'avantage significatif.
Source : Mehri S, et al. *Correlation between follicular diameters and flushing versus no flushing on oocyte maturity, fertilization rate and embryo quality.* J Assist Reprod Genet *2014; 31 : 73-7.*

Tableau 21.7 Résultats prospectifs et rétrospectifs des saignements dus à la ponction transvaginale.

Auteur	*n*[a]	Diagnostic	Incidence	Traitement
Données	1058	Saignement vaginal requérant >1 minute de compression	1/1049 (2,8 %)	Compression locale
		Saignement vaginal requérant l'application d'une mèche > 2 h	1/1049 (0,1 %)	Mèche
		Saignement vaginal requérant une suture	0	
		Saignement intra-abdominal	0	
Bergh et Lundkvist (1992)[b]	10 125	Saignement vaginal	35/10 125 (0,5 %)	Observation
		Saignement intrapéritonéal	2/10 125 (0,02 %)	Laparotomie
Bennett *et al.* (1993) (étude prospective)	270	Saignement vaginal (tous cas confondus)	229/2670 (8,6 %)	
		Saignement vaginal (>100 ml)	22/2670 (0,8 %)	1 × suture
		Saignement vaginal requérant compression locale	28/2670 (1,0 %)	Compression locale
		Hémopéritoine	2/2670 (0,07 %)	1x Laparotomie
		Ponction vaisseau iliaque	1/2670 (0,04 %)	Fermeture spontanée, antibiotiques
Dicker *et al.* (1993) (étude rétrospective)	3656	Saignement intra-abdominal sévère	3/3656 (0,08 %)	Laparotomie, 1X transfusion sanguine
Tureck *et al.* (1993) (étude rétrospective)	674	Saignement intra-abdominal	1/674 (0,3 %)	Coelioscopie, observation
Govaerts *et al.* (1998) (étude rétrospective)	1500	Saignement intrapéritonéal	3/1500 (0,2 %)	3x coelioscopie

[a] Nombre d'ovocytes ponctionnés
[b] Enquête de 12 centres de FIV par un questionnaire, définitions et évaluations des résultats ne sont pas claires.
Source : Ludwig AK, *et al.* Perioperative and post-operative complications of transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval : prospective study of > 1000 oocyte retrievals. *Hum Reprod* 2006 ; 21 : 3235-40.

Tableau 21.8 Résultats prospectifs et rétrospectifs des infections dues à la ponction transvaginale.

Auteur	*n*[a]	Diagnostic	Incidence	Traitement
Données	1058	Infection pelvienne	0	
		Abcès pelvien	0	
		Fièvre d'origine inconnue	1/1058 (0,1 %)	Aucun
Bergh and Lundkvist (1992)[b]	10 125	Abcès pelviens	20/10125 (0,3 %)	6/20 : opérations
				14/20 : traitement antibiotique
Bennett *et al.* (1993) (étude prospective)	2670	1. Petite infection pelvienne (fièvre et douleurs pelviennes)	1,9/2670 (0,3 %)	7 × traitement antibiotique
				1 × aspiration
		2. Infection pelvienne	2,9/2670 (0,3 %)	1 × colpotomie
				7 × laparotomie
Dicker *et al.* (1993) (étude rétrospective)	3656	Abcès tubo-ovarien et pelvien	9/3656 (0,24 %)	3 × laparotomie et ovariectomie
				6 × colpotomie
Tureck *et al.* (1993) (étude rétrospective)	674	Infection pelvienne ou abcès	Abcès tubo-ovarien : 2/674 (0,3 %)	Traitement antibiotique
			Adnexitis: 7/674 (1,0 %)	
Ashkenazi *et al.* (1994) (étude rétrospective)	4771	Infection pelvienne (Fièvre > 48 h, péritonite, leucocytes > 12000, VS augmentée)	28/4771 (0,58 %)	Traitement antibiotique
Roest *et al.* (1996) (étude rétrospective)	2495	Infection pelvienne (fièvre, péritonite, élévation des leucocytes, VS augmentée)	6/2495 (0,24 %)	Traitement antibiotique

[a] Nombre d'ovocytes ponctionnés
[b] Enquête de 12 centres de FIV par un questionnaire, définitions et évaluations des résultats ne sont pas claires.
Source : Ludwig AK, *et al.* Perioperative and post-operative complications of transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval : prospective study of > 1000 oocyte retrievals. *Hum Reprod* 2006 ; 21 : 3235-40.

aux complications anesthésiques. Le syndrome d'hyperstimulation ovarienne n'est pas une complication de la ponction ovocytaire à proprement parler [31, 32]. L'ABM devrait prochainement publier les complications liées à la ponction ovocytaires issus des résultats des déclarations des événements indésirables et d'une enquête nationale.

Cependant, il est possible de retrouver en fin de ponction – surtout si celle-ci a nécessité plusieurs réintroductions de l'aiguille du fait de mauvaise position de l'ovaire à ponctionner ou de douleurs de la patiente – des saignements de la paroi vaginale aux points de ponction ou du col. Une compression à l'aide d'une compresse pendant quelques minutes permet dans la majorité des cas de stopper les saignements. En cas d'artériole atteinte entraînant un flot continu de saignement non maîtrisé par la compression, un point peut être posé à l'aide d'un fil résorbable pour rapidement arrêter les saignements et éviter les complications. Il est fortement conseillé de laisser sortir la patiente du bloc opératoire quand le saignement vaginal est maîtrisé. Une surveillance de 2 h avant la sortie de la patiente est dans tous les cas nécessaire. La présence d'un hôpital proche du domicile de la patiente est rassurante en cas de complication secondaire toujours possible. S'il existe un doute quand à la sécurité de la patiente, l'hospitalisation jusqu'au lendemain matin permettra une surveillance rapprochée.

Conclusion

La ponction ovocytaire par voie transvaginale est un geste effectué quotidiennement par des milliers de centres d'assistance médicale à la procréation (AMP). Le *timing* correct de la ponction par rapport à l'heure du déclenchement permet l'acquisition de plus d'ovocytes matures.

Le *flushing* ovocytaire n'a pas fait la preuve de son efficacité pour améliorer les résultats quand il est utilisé de façon systématique. Les petites séries publiées sur les patientes « mauvaises répondeuses » n'ont pas su répondre à cette question de l'optimisation des chances de réussite quand l'acquisition d'un ovocyte supplémentaire pouvait tout changer et il faudra probablement attendre les conclusions de notre série pour avoir une puissance statistique suffisante pour y répondre. Enfin, bien que ce geste se soit banalisé, il n'en reste pas moins qu'il peut y avoir des complications, rares certes mais qui parfois peuvent être graves. Il faut donc rester vigilant sur la prévention des complications, la surveillance post-ponction à court et à moyen terme et offrir aux patientes l'accès à un service spécialisé rapidement en cas de saignements, de fièvre ou tout autre symptôme dans les suites d'une ponction ovocytaire.

Références

[1] Dellenbach P, Nisand I, Moreau L, et al. Transvaginal sonographically controlled follicle puncture for oocyte retrieval. Lancet 1984 ; 1 : 1467.

[2] Gembruch U, Diedrich K, Welker B, et al. Transvaginal sonographically guided oocyte retrieval for in-vitro fertilization. Hum Reprod 1988 ; 3 : 59–63.

[3] Wikland M, Enk L, Hamberger L. Transvesical and transvaginal approaches for the aspiration of follicles by use of ultrasound. Ann N Y Acad Sci 1985 ; 442 : 182–94.

[4] Kushnir VA, Kim A, Gleicher N, Barad DH. A pilot trial of large versus small diameter needles for oocyte retrieval. Reproductive Biology and Endocrinology 2013 ; 11 : 22.

[5] Ectors FJ, Vanderzwalmen P, Van Hoeck J, et al. Relationship of human follicular diameter with oocyte fertilization and development after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1997 ; 12 : 2002–5.

[6] Scott RT, Hofmann GE, Muasher SJ, et al. Correlation of follicular diameter with oocyte recovery and maturity at the time of transvaginal follicular aspiration. J In Vitr Fert Embryo Transf 1989 ; 6 : 73–5.

[7] Wittmaack FM, Kreger DO, Blasco L, et al. Effect of follicular size on oocyte retrieval, fertilization, cleavage, and embryo quality in in vitro fertilization cycles : a 6-year data collection. Fertil Steril 1994 ; 62 : 1205–10.

[8] Bergh C, Broden H, Lundin K, Hamberger L. Comparison of fertilization, cleavage and pregnancy rates of oocytes from large and small follicles. Hum Reprod 1998 ; 13 : 1912–5.

[9] Dubey AK, Wang HA, Duffy P, Penzias AS. The correlation between follicular measurements, oocyte morphology, and fertilization rates in an in vitro fertilization program. Fertil Steril 1995 ; 64 : 787–90.

[10] Forman RG, Robinson J, Yudkin P, et al. What is the true follicular diameter - an assessment of the reproducibility of transvaginal ultrasound monitoring in stimulated cycles. Fertil Steril 1991 ; 56 : 989–92.

[11] Nargund G, Reid F, Parsons J. Human chorionic gonadotropin-to-oocyte collection interval in a superovulation IVF program. A prospective study. J Assist Reprod Genet 2001 ; 18 : 87–90.

[12] Bjercke S, Tanbo T, Dale PO, Abyholm T. Comparison between two hCG-to-oocyte aspiration intervals on the outcome of in vitro fertilization. J Assist Reprod Genet 2000 ; 17 : 319–22.

[13] Reichman DE, Missmer SA, Berry KF, et al. Effect of time between human chorionic gonadotropin injection and egg retrieval is age dependent. Fertil Steril 2011 ; 95 : 1990–5.

[14] Wang W, Zhang XH, Wang WH, et al. The time interval between hCG priming and oocyte retrieval in ART program : a metaanalysis. J Assist Reprod Genet 2011 ; 28 : 901–10.

[15] Weiss A, Neril R, Geslevich J, et al. Lag time from ovulation trigger to oocyte aspiration and oocyte maturity in assisted reproductive technology cycles : a retrospective study. Fertil Steril 2014 ; 102 : 419–23.

[16] Tsai ET, Lin MYS, Chen SH, et al. Vaginal disinfection with povidone iodine immediately before oocyte retrieval is effective in preventing pelvic abscess formation without compromising the outcome of IVF. J Assist Reprod Genet 2005 ; 22.

[17] Kac G, Podglagen I, Si-Mohamed A, et al. Evaluation of Ultraviolet C for disinfection of endocavitary ultarsound transducers persisitently contamintated despite probe covers. Infect Control Hosp Epidemiol 2010 ; 31 : 165–70.

[18] Kwan I, Bhattacharya S, Knox F, McNeil A. Pain relief for women undergoing oocyte retrieval for assisted reproduction. Cochrane Database Syst Rev 2013 ; 1 : CD004829.

[19] Miller KA, Elkind-Hirsch K, Benson M, et al. A new follicle aspiration needle set is equally effective and as well tolerated as the standard needle when used in a prospective randomized trial in a large in vitro fertilization program. Fertil Steril 2004 ; 81 : 191–3.

[20] Hill MJ, Levens ED. Is there a benefit in follicular flushing in assisted reproductive technology ? Curr Opin Obstet Gynecol 2010 ; 22 : 208–12.

[21] Levens ED, Whitcomb BW, Payson MD, Larsen FW. Ovarian follicular flushing among low responding patients undergoing assisted reproductive technology. Fertil Steril 2009 ; 91 : 1381–4.
[22] Haydardedeoglu B, Cok T, Kilicdag EB, et al. In vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection outcomes in single- versus double-lumen oocyte retrieval needles in normally responding patients : a randomized trial. Fertil Steril 2011 ; 95 : 812–4.
[23] Levy G, Hill MJ, Ramirez CI, et al. The use of follicle flushing during oocyte retrieval in assisted reproductive technologies : a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod 2012 ; 27 : 2373–9.
[24] Rongières-Bertrand C, Olivennes F, Righini C, et al. Revival of the natural cycles in in-vitro fertilization with the use of a new gonadotrophin-releasing hormone antagonist (Cetrorelix) : a pilot study with minimal stimulation. Hum Reprod 1999 ; 14 : 683–8.
[25] Mendez Lozano DH, Brum Scheffer J, Frydman N, et al. Optimal reproductive competence of oocytes retrieved through follicular flushing in minimal stimulation IVF. Reprod Biomed Online 2008 ; 16 : 119–23.
[26] Von Wolff M, Hua YZ, Santi A, et al. Follicle flushing in monofollicular in vitro fertilization almost doubles the number of transferable embryos. Acta Obstet Gynecol Scand 2013 ; 92 : 346–8.
[27] Mok-Lin E, Brauer AA, Schattman G, et al. Follicular flushing and in vitro fertilization outcomes in the poorest responders : a randomized controlled trial. Hum Reprod 2013 ; 28 : 2990–5.
[28] Mehri S, Levi Setti PE, Greco K, et al. Correlation between follicular diameters and flushing versus no flushing on oocyte maturity, fertilization rate and embryo quality. J Assist Reprod Genet 2014 ; 31 : 73–7.
[29] Ludwig AK, Glawatz M, Griesinger G, et al. Perioperative and post-operative complications of transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval : prospective study of > 1000 oocyte retrievals. Hum Reprod 2006 ; 21 : 3235–40.
[30] Aragona CM, Mohamed MA, Espinola MSB, et al. Clincal complications after oocytes retrieval in 7,098 IVF cycles. Fertil Steril 2011 ; 95 : 293–4.
[31] El-Shawarby S, Margara R, Trew G, Lavery S. A review of complications following transvaginal oocyte retrieval for in-vitro fertilization. Hum Fertil (Camb) 2004 ; 7 : 127–33.
[32] Siristatidis C, Chrelias C, Alexiou A, Kassanos D. Clinical complications after transvaginal oocyte retrievapl : a retrospective analysis. J Obstet Gynaecol 2013 ; 33 : 64–6.

Indications et techniques des prélèvements testiculaires et épididymaires

Chapitre 22

C. Methorst, V. Izard

L'azoospermie (absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat après centrifugation du culot et résultats vérifiés à 3 mois d'intervalle) ne concerne que 1 % des hommes mais s'élève à 15 % dans la population des hommes infertiles.

Que ce soit en cas d'azoospermie obstructive ou d'azoospermie non obstructive (azoospermie dite sécrétoire par insuffisance testiculaire), le prélèvement chirurgical peut permettre de retrouver des spermatozoïdes :

- en fonction de l'étiologie de l'infertilité ;
- au niveau épididymaire ou testiculaire.

Après avoir répondu à la question du bien-fondé du prélèvement chirurgical, se posent les questions :

- du site de recueil gamétique : quelle gonade ? quel niveau épididymaire et/ou testiculaire ?
- du type de prélèvement : testiculaire classique ou microprélèvement ?
- du temps du prélèvement : quand prélever ? en synchrone ou asynchrone du recueil ovocytaire ?

L'on peut également se demander s'il est possible d'améliorer la probabilité de retrouver des spermatozoïdes de bonne qualité lors du prélèvement.

Il existe enfin d'autres indications que l'azoospermie au prélèvement.

Le prélèvement de spermatozoïdes : synchrone ou asynchrone ?

Dans le cadre de l'azoospermie, le prélèvement chirurgical de spermatozoïdes peut s'effectuer en même temps que le prélèvement des ovocytes chez la partenaire (prélèvement synchrone), ou bien préalablement à la stimulation folliculaire ovarienne (prélèvement asynchrone avec autoconservation gamétique : cryopréservation).

En cas de prélèvement synchrone, il y a bien entendu une autoconservation de l'excédent gamétique qui s'ajoute.

L'organisation du prélèvement synchrone (sans autoconservation préalable) se heurte aux aléas d'une biopsie masculine blanche (absence de spermatozoïdes retrouvés), à la difficulté de synchroniser des équipes biologiques et cliniques.

Dans ce cas, il est légitime de soulever aussi la question :

- des cas où il n'est pas possible de retrouver de spermatozoïdes lors de la biopsie ;
- du coût supplémentaire inhérent au caractère urgent prioritaire lié aux gestes synchrones non programmés ;
- de l'augmentation des lésions à chaque geste sur le testicule eu égard à la morbidité transitoire (6 à 12 mois) voire définitive de gestes itératifs dans la chirurgie scrotale.

La question de l'intérêt systématique du prélèvement synchrone est légitimement posée par certaines équipes.

Le développement de l'extraction chirurgicale de spermatozoïdes constitue une nouvelle une arme combinée à l'ICSI *(intracytoplasmic sperm injection)* dans la prise en charge des hommes azoospermes.

Les premiers spermatozoïdes prélevés l'ont été au niveau épididymaire et ont été utilisés de façon

synchrone en 1985. Depuis, des spermatozoïdes épididymaires congelés sont utilisés avec succès. Des spermatozoïdes d'origine testiculaire s'avèrent utilisables en ICSI depuis 1995.

De nombreuses méta-analyses s'intéressent aux résultats de l'utilisation de spermatozoïdes frais *versus* décongelés. Les résultats diffèrent en fonction de l'étiologie de l'infertilité.

Différences entre azoospermie excrétoire et azoospermie non excrétoire (ou sécrétoire)

Dans les cas d'azoospermie sécrétoire (azoospermie obstructive ou AO), par déficience de la spermatogenèse, les testicules sont souvent hypotrophiques, plus petits, leur abord chirurgical faisant ensuite courir un risque sur la fonction endocrine testiculaire. Dans les cas d'azoospermie non excrétoire (azoospermie non obstructive ou ANO), la probabilité de retrouver des spermatozoïdes dans la biopsie testiculaire sera esquissée par le reflet de la fonction sertolienne du testicule (exprimée par le dosage plasmatique de l'inhibine B) et de la taille de la gonade. Les effectifs de spermatozoïdes ainsi retrouvés au niveau de la pulpe testiculaire pourront être pauvres, reflet de zones clairsemées de foyers de spermatogenèse dans les tubes séminifères.

Lors d'un prélèvement pour la prise en charge d'un patient porteur d'une AO, la probabilité de retrouver des spermatozoïdes à la biopsie sera beaucoup plus importante, évitant les biopsies larges ou multiples et le risque de dégradation de la fonction interstitielle leydigienne endocrine beaucoup plus faible sur une gonade eutrophique.

Les résultats de différentes méta-analyses mettent en évidence un taux de fertilisation diminué de 18 % et un taux de grossesses diminué de 36 % entre l'utilisation de sperme de patients présentant une ANO et celle de patients présentant une AO [1].

Les taux de fausses couches restent, eux, inchangés [2]. Il semblerait que les différences entre ces taux soient dues à une moins bonne blastulation et un moins bon taux d'implantation des embryons obtenus en ICSI issus d'hommes présentant une ANO [3]. De plus, les hommes présentant une ANO ont une incidence plus élevée d'anomalies chromosomiques au niveau du spermatozoïde [4].

Au total, en cas d'AO et d'ANO, les prélèvements de spermatozoïdes permettent la réalisation de techniques d'aide médicale à la procréation et les résultats de ces techniques sont liés à l'origine de l'infertilité de l'homme.

Différence entre spermatozoïdes frais et décongelés chez les patients porteurs d'une azoospermie non obstructive

Une étude comparative rétrospective récente analysant des cycles consécutifs d'ICSI en frais ou en décongelé et sélectionnant uniquement des patients porteurs d'une ANO ne retrouve pas de différence significative en termes de grossesse significative et de naissance en taux cumulé [5]. Cependant, ces résultats doivent être pondérés chez les patients porteurs de ce type de pathologie. La probabilité de retrouver des spermatozoïdes à la ponction est assez faible. Chez ce type de patients présentant des paramètres péjoratifs tels qu'un volume testiculaire faible et des paramètres biologiques très altérés (certes non réellement prédictifs de la probabilité de retrouver des spermatozoïdes lors de l'extraction), on sait que le recueil risque d'être relativement pauvre et que les rares spermatozoïdes recueillis vivants excédentaires ne seront parfois pas susceptibles de bénéficier d'une autoconservation. En ce sens, chez ce type de patients, un prélèvement synchrone doit pouvoir être proposé pour maximiser la probabilité de fertilisation des ovocytes [6].

Différence entre spermatozoïdes frais et congelés chez les patients porteurs d'une azoospermie obstructive

Une étude comparative rétrospective analysant des cycles consécutifs d'ICSI en frais ou en congelé et sélectionnant uniquement des patients porteurs d'une AO ne retrouve pas de différence significative en termes de grossesse significative et de naissance en taux cumulé [1].

Devenir en termes de taux d'implantation et de naissances

En reprenant l'ensemble des méta-analyses, on ne retrouve certes pas de différence significative en

termes de taux de fertilisation ou de grossesses avec des spermatozoïdes utilisés frais ou décongelés. Il existe cependant une différence significative en termes d'implantation qui est plus élevée en cas d'utilisation de sperme frais [7].

Enfin, une analyse de 337 cycles d'ICSI réalisée sur du sperme prélevé le jour (ou la veille) du recueil ovocytaire et du sperme décongelé chez des patients porteurs d'une ANO ou d'une AO ne met pas en évidence de différence significative entre les deux groupes en termes de taux de fertilisation, de nombre d'embryons obtenus et transférés, de taux d'implantation, de fausses couches et de grossesses avec naissance d'un enfant vivant [8].

Difficultés du prélèvement synchrone

La probabilité de retrouver des spermatozoïdes lors de l'extraction est bien entendu variable selon l'étiologie de l'azoospermie et oscille, toutes causes confondues, entre 36 et 64 %.

La difficulté liée au prélèvement synchrone réside dans le « stress du direct » où le processus est enclenché par la stimulation folliculaire ovarienne et la déception du couple au décours de la stimulation folliculaire ovarienne et de la ponction ovocytaire en cas de ponction masculine blanche [9]. Alors que la proposition de prélèvement asynchrone ou différé permet de savoir s'il existe des spermatozoïdes qu'il faudra congeler pour une utilisation ultérieure.

En cas de prélèvement testiculaire itératif, le geste augmente le risque de complication : hématome gonadique ou pariétal, infection, altération du parenchyme et de la vascularisation testiculaire, diminution de la fonction leydigienne du testicule. Le prélèvement synchrone requiert un temps de travail biologique de préparation gamétique en vue de l'ICSI du jour et ne doit ne pas obérer les chances d'autoconservation des spermatozoïdes excédentaires.

Un nouvel atout pour le prélèvement synchrone : la vitrification ovocytaire

Les récentes avancées des biologistes en vitrification ovocytaire viennent pondérer les aléas du prélèvement synchrone puisqu'il est désormais possible de : pallier les aléas d'une biopsie testiculaire blanche; congeler des ovocytes matures qui ne pourraient être micro-injectés, faute de spermatozoïdes autologues; proposer ultérieurement une microfécondation de ces ovocytes décongelés avec des spermatozoïdes hétérologues issus du don.

La ponction synchrone devient donc plus raisonnablement envisageable dans certains cas aléatoires auprès de couples dûment informés et préparés à cette éventualité. L'inscription pour le don de gamètes masculins dans les centres d'étude et de conservation des œufs et du sperme humains (CECOS) est limitée notamment en fonction de l'âge de la partenaire (avant 40 ans). Certains couples engagés dans un processus d'aide médicale à la procréation évoquent ainsi tôt la possibilité de prendre information et date en formalisant une consultation de couple auprès d'un CECOS dans l'idée d'un recours gamétique hétérologue en cas d'échec du projet conjugal autologue. Le recours à l'utilisation ultérieure de spermatozoïdes dans le cadre du don peut ainsi être évoqué en amont du recueil chirurgical.

Site du prélèvement : épididyme ou testicule ? à gauche et ou à droite ?

Sur une méta-analyse reprenant dix études comparant les résultats de patients présentant une AO et bénéficiant d'extraction chirurgicale de sperme, il n'est pas montré de différence en termes de taux de fertilisation, de grossesses et de naissance vivante [1] entre l'utilisation de spermatozoïdes prélevés au niveau épididymaire et celle de spermatozoïdes prélevés au niveau testiculaire.

Dans le cadre de l'AO, le testicule le plus trophique, le plus volumineux, le plus ferme, sera celui dont la spermatogenèse sera la meilleure, reflétée par les dosages préopératoires de FSH *(follicle-stimulating hormone)* et d'inhibine B plasmatique, d'où l'intérêt d'un examen clinique diligent comparatif et de la qualité d'une échographie préalable bien conduite.

Dans les obstructions épididymaires manifestes, des spermatozoïdes jeunes, vivants, voire mobiles sont retrouvés haut en amont, dans l'épididyme proximal voire dans le testicule. L'examen clinique et biologique peropératoire permet, en cas d'AO et d'ANO, de choisir au mieux le site optimal de prélèvement gamétique.

Recueil chirurgical en dehors de l'azoospermie

Il existe deux situations particulières où l'extraction chirurgicale de spermatozoïdes peut être proposée malgré la présence de spermatozoïdes sur le culot de centrifugation de l'éjaculat.

La première est la nécrozoospermie. Sur 231 couples présentant une nécrozoospermie supérieure à 55 % (reflet d'un transit séminal manifestement délétère), l'utilisation de spermatozoïdes vivants obtenus par prélèvement chirurgical (d'origine testiculaire) a permis une amélioration du taux de grossesses (36,8 % *versus* 16 %) du taux d'implantation (27 % *versus* 12 %), du taux de naissances vivantes (28 % *versus* 13 %) et une diminution du taux de fausses couches (26 % *versus* 17 %) [10].

L'autre situation est la cryptozoospermie (moins de 100 000 spermatozoïdes/mL). Une étude récente [11] prouve la supériorité de l'utilisation de spermatozoïdes prélevés chirurgicalement sur les rares spermatozoïdes éjaculés. Il est mis en évidence une augmentation du taux d'implantation (20 % *versus* 5 %), du taux de grossesses (17 % *versus* 8 %), du taux de naissances vivantes (27 % *versus* 9 %) et une diminution du taux de fausses couches (2 % *versus* 6 %).

Une analyse multivariée des différents paramètres fait ressortir trois facteurs prédictifs d'obtention d'une grossesse : l'âge maternel, l'utilisation de spermatozoïdes d'origine testiculaires et l'utilisation de spermatozoïdes mobiles. Dans cette étude, tous les cycles ont été faits sur des spermatozoïdes frais prélevés chirurgicalement et l'étude comparative entre spermatozoïdes prélevés frais et congelés a permis de mettre en évidence une différence significative en favorable sur le groupe frais [12].

Il semblerait que la différence des résultats entre spermatozoïdes issus de l'éjaculat et spermatozoïdes prélevés chirurgicalement s'explique par une moins grande altération de l'ADN gamétique dans le groupe prélevé.

Dans le chapitre de la cryptozoospermie, il est capital de ne pas attendre que le testicule se dégrade de manière trop importante avant de songer à un recueil gamétique testiculaire, compte tenu de l'effet délétère peu prévisible du temps sur le maintien de la spermatogenèse. De même, il ne sert à rien d'attendre l'épuisement du stock de paillettes de rares spermatozoïdes éjaculés chez un sujet devenu depuis lors azoosperme pour proposer une ponction ; les décisions thérapeutiques se prennent au cas par cas en fonction du patient, du couple et de la cinétique spermiologique.

Comment améliorer les résultats de l'extraction chirurgicale ?

Dès le début de la prise en charge, les cofacteurs d'infertilité environnementaux et les effets toxiques liés à la consommation de produits tels que le tabac et le cannabis doivent être jugulés. Une attention particulière est portée à la correction du surpoids, de la sédentarité, de la posture assise au travail, d'une pratique sportive excessive. Ces perturbateurs environnementaux agissent tels des perturbateurs endocriniens entraînant un hyperinsulinisme et un hyperœstrogénisme.

Il est bien entendu que les traitements médicaux et le traitement de la varicocèle ne sont pas suffisants seuls pour améliorer la probabilité de retrouver de spermatozoïdes lors de la ponction testiculaire.

Sur un effectif de 233 patients [13] présentant une ANO et une varicocèle clinique dans une méta-analyse de 11 articles, le traitement premier de la varicocèle a permis de retrouver des spermatozoïdes mobiles dans l'éjaculat chez 91 patients soit 39 % d'entre eux à distance de la cure de varicocèle avec une numération gamétique de 1,6 ± 1,2 million de spermatozoïdes/mL et une mobilité de 20 ± 18,5 %. Onze de ces patients ont cependant rechuté en azoospermie.

Certaines équipes évoquent la pertinence de travaux multicentriques (hors autorisation de mise sur le marché en France) pour sélectionner des sujets susceptibles de bénéficier d'un traitement pharmacologique stimulant la spermatogenèse par effet anti-œstrogène (citrate de clomifène, tamoxifène, inhibiteurs de l'aromatase). Une étude prospective [14] sur 612 patients présentant une azoospermie non obstructive avec une FSH normale ou modérément élevée s'est ainsi intéressée à l'utilisation d'un traitement anti-œstrogène par le citrate de clomifène dans le but de rehausser le taux de testostérone intratesticulaire. Des spermatozoïdes ont été retrouvés chez 10,9 % des patients

traités. Chez les patients restés azoospermes après le traitement, l'extraction chirurgicale a permis de retrouver 57 % de biopsies positives contre 33,6 % de biopsies positives dans le groupe contrôle.

Quelles modalités pour le prélèvement ?

Plusieurs options sont disponibles pour le prélèvement de spermatozoïdes une fois le diagnostic posé.

La PESA *(percutaneous epididymal sperm aspiration)* peut être proposée en cas d'AO, il s'agit d'un prélèvement épididymaire simple synchrone sans exploration chirurgicale associée qui peut être réalisé sous anesthésie locale. Le testicule est tenu entre les mains de l'opérateur, une aiguille est positionnée à l'aveugle dans l'épididyme et reculée jusqu'à ce qu'un liquide séminal soit récupéré. La procédure est répétée jusqu'à obtention d'un résultat. Les avantages de cette technique sont : l'absence d'anesthésie, la simplicité pour un acte synchrone d'ouverture chirurgicale et le peu de matériel nécessaire. Les désavantages sont : le peu de spermatozoïdes récupérés, le risque d'hématome et de lésion de l'épididyme et l'absence de possibilité de réparation de la cause de l'AO.

La MESA *(microsurgical epididymal sperm aspiration)* est une technique à ciel ouvert qui va permettre de choisir la meilleure zone pour le prélèvement de spermatozoïdes. La technique se déroule sous microscope opératoire ou sous loupes, un tubule est choisi visuellement puis disséqué et cathétérisé. Cette technique est le gold standard en cas d'AO et permet de plus le traitement microchirurgical de l'obstruction : vasovasostomie, vaso-épididymostomie. Les avantages sont l'absence de contamination hématique du prélèvement, la qualité et la quantité de spermatozoïdes prélevés, les bons résultats en congélation de ces spermatozoïdes, le meilleur taux de grossesses après ce type d'extraction et la diminution du risque d'hématome postopératoire (hémostase bipolaire).

Les désavantages de la technique, notamment dans la procédure synchrone, sont la nécessité d'une expertise microchirurgicale, l'anesthésie, le coût et l'inconfort postopératoire dus à l'incision scrotale.

La TESE *(testicular sperm extraction)* classique est considérée comme le gold standard chez les patients présentant une ANO. Le testicule est exposé à travers une petite incision et une à plusieurs biopsies sont réalisées sur de courtes albuginotomies (figure 22.1). Le testicule exploré en premier est celui considéré comme le plus trophique. L'aspect de la pulpe lors de l'examen extemporané permet une première expertise du prélèvement tissulaire : couleur et calibre des tubes séminifères.

Une microdissection extemporanée sur lame est réalisée au bloc opératoire et l'examen au microscope biologique permet de s'assurer de la présence de spermatozoïdes. La biopsie peut être réalisée sur différents sites du testicule le plus trophique pour augmenter la rentabilité (probabilité d'extraction passant de 20 à 40 %) et ne doit pas hésiter à être bilatérale pour les mêmes raisons (probabilité d'extraction passant de 35 à 49 %) [15].

Selon l'équipe lilloise [16] qui présente une des plus grandes séries françaises avec plus de 800 cas, le pourcentage d'extraction positive est aux alentours de 50 % chez les ANO. Cependant, chez ces patients présentant souvent un volume testiculaire assez faible, cette technique peut diminuer le volume, altérer la vascularisation et la fonction endocrine du testicule.

La technique de micro-TESE est réalisée sous microscope opératoire (grossissement × 20 à 25) après avoir totalement ouvert l'albuginée. La magnification de l'image vise à choisir les meilleurs tubules séminifères : les plus blancs, les plus opaques, au calibre le plus large. Ainsi, les zones optimales de production des spermatozoïdes sont mieux reconnues, les risques de lésion vasculaire sont minimisés par l'hémostase à la pince bipolaire et la quantité de parenchyme prélevé est, elle aussi, diminuée.



Figure 22.1 ***Testicular sperm extraction*** **(TESE).**

La micro-TESE semble faire mieux que la TESE conventionnelle. Elle nécessite une organisation particulière rendue plus délicate en cas de prélèvement synchrone. Une méta-analyse [17] incluant sept articles originaux en prospectif ou en rétrospectif a conclu en faveur de la micro-TESE avec un taux d'extraction de 53 % *versus* 33 % pour la TESE (odds ratio 1,63). Ces résultats sont surtout intéressants en fonction de l'histologie testiculaire et dans les cas de d'arrêt de maturation, de *Sertoli cell only syndrome* et d'hypoplasie sévère.

La micro-TESE est une technique intéressante qui requiert l'attention des équipes d'assistance médicale à la procréation (AMP) éclectiques et innovantes et qu'il faudra vraisemblablement promouvoir dans les cas où la probabilité de trouver des spermatozoïdes à la biopsie est faible, en se rappelant de la mise à disposition du microscope opératoire, de la durée beaucoup plus longue de l'intervention et de la courbe d'apprentissage microchirurgical de la technique. Certaines équipes la planifient la veille du recueil ovocytaire.

Rappelons qu'une technique de biopsie percutanée testiculaire à l'aveugle a été décrite (*testicular fine needle aspiration* ou TEFNA). Ses résultats en termes d'extraction de spermatozoïdes sont beaucoup moins bons que la plus conventionnelle TESE : 11 % contre 43 % d'extraction de spermatozoïdes. Cette technique entraîne des dommages au niveau des tubules, des risques d'atrophie testiculaire et des risques d'hématome. Ce traitement peut être un recours simple : par exemple, patient anciennement vasectomisé et demandant un prélèvement sans chirurgie de reconstruction.

Au total, la prise en charge de ces patients infertiles nécessite donc une réflexion avant un geste qui n'est pas celui d'un technicien du testicule mais bien d'un praticien qui aura préalablement réfléchi avec l'ensemble des équipes cliniques et biologiques à la manière dont le prélèvement doit être conduit (figures 22.2 et 22.3).

Le nombre de patients pour qui se pose la question du prélèvement de gamètes est assez faible et les plateaux techniques devraient pouvoir concentrer les moyens de manière à proposer le temps opératoire, l'expertise du geste et le matériel chirurgical et biologique adéquat.

Il n'y a pas de consensus quant au type d'extraction à proposer, la TESE reste le gold standard mais la micro-TESE va vraisemblablement s'imposer en asynchrone ou synchrone dans les cas les plus complexes.

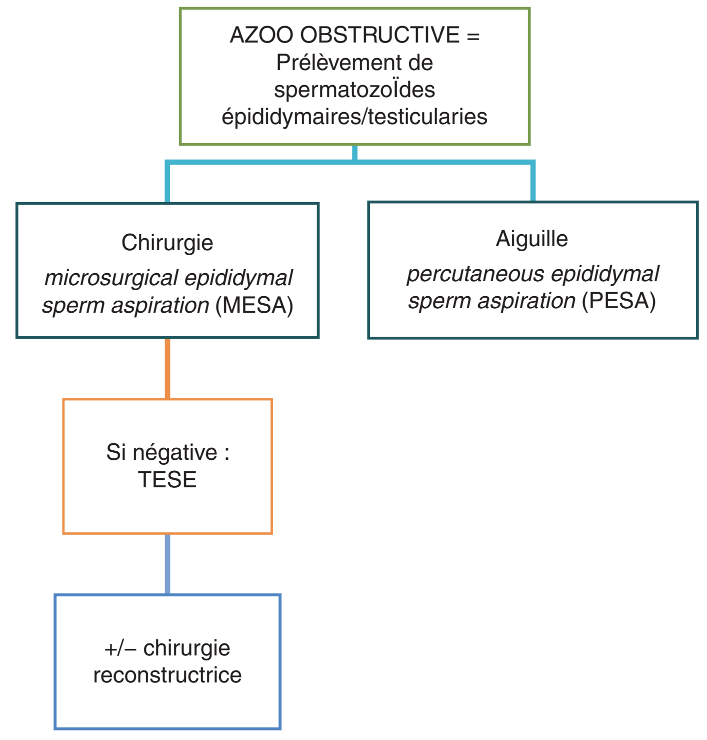


Figure 22.2 Schéma décisionnel en cas d'azoospermie obstructive.

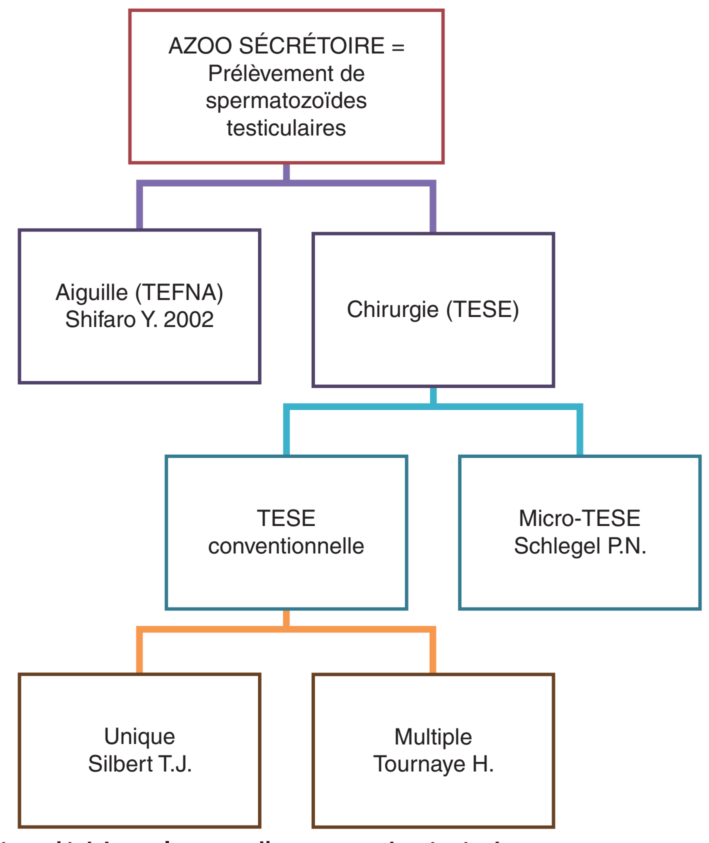


Figure 22.3 **Schéma décisionnel en cas d'azoospermie sécrétoire.**

Références

[1] Nicopoullos JD, Gilling-Smith C, Almeida PA, et al. Use of surgical sperm retrieval in azoospermic men : a meta-analysis. Fertil Steril 2004 ; 82 : 691–701.

[2] De Croo I, Van der Elst J. K. Everaert K, et al. Fertilization, pregnancy, and embryo implantation rates after ICSI in cases of obstructive and non-obstructive azoospermia. Hum Reprod 2000 ; 15 : 1381–8.

[3] Miller JE, Smith TT. The effect of intracytoplasmic sperm injection and semen parameters on blastocyst development in vitro. Hum Reprod 2001 ; 16 : 916–24.

[4] Palermo GD, Colombero LT, Hariprashad JJ, et al. Chromosome analysis of epididymal and testicular sperm in azoospermic patients undergoing ICSI. Hum Reprod 2002 ; 17 : 570–5.

[5] Friedler S, Raziel A, Soffer Y, et al. Intracytoplasmic injection of fresh and cryopreserved testicular spermatozoa in patients with non-obstructive azoospermia - a comparative study. Fertil Steril 1997 ; 68 : 892–7.

[6] Grynberg M, Hesters L, Thubert T, et al. Oocyte cryopreservation following failed testicular sperm extraction : a French case report with implications for the management of non-obstructive azoospermia. Reprod Biomed Online 2012 ; 24 : 611–3.

[7] Kuczynski W, Dhont M, Grygoruk C, et al. The outcome of intracytoplasmic injection of fresh and cryopreserved ejaculated spermatozoa - a prospective randomized study. Hum Reprod 2001 ; 16 : 2109–13.

[8] Karacan M, Alwaeely F, Erkan S, et al. Outcome of intracytoplasmic sperm injection cycles with fresh testicular spermatozoa obtained on the day of or the day before oocyte collection and with cryopreserved testicular sperm in patients with azoospermia. Fertil Steril 2013 ; 100 : 975–80.

[9] Grynberg M, Chevalier N, Mesner A, et al. Non-obstructive azoospermia : option of the testicular sperm extraction performed on the day of oocyte retrieval. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2011 ; 40 : 130–6.

[10] Negri L, Patrizio P, Albani E, et al. ICSI outcome is significantly better with testicular spermatozoa in patients with necrozoospermia : a retrospective study. Gynecol Endocrinol 2014 ; 30 : 48–52.

[11] Ben-Ami I, Raziel A, Strassburger D, et al. Intracytoplasmic sperm injection outcome of ejaculated versus extracted testicular spermatozoa in cryptozoospermic men. Fertil Steril 2013 ; 99 : 1867–71.

[12] Wood S, Thomas K, Schnauffer K, et al. Reproductive potential of fresh and cryopreserved epididymal and testicular spermatozoa in consecutive intracytoplasmic sperm injection cycles in the same patients. Fertil Steril 2002 ; 77 : 1162–6.

[13] Weedin JW, Khera M, Lipshultz LI. Varicocele repair in patients with nonobstructive azoospermia : a meta-analysis. J Urol 2010 ; 183 : 2309–15.

[14] Hussein A, Ozgok Y, Ross L, Niederberger C. Clomiphene administration for cases of nonobstructive azoospermia : a multicenter study. J Androl 2005 ; 26 : 787–91 discussion 792–3.

[15] Carpi A, Sabanegh E, Mechanick J. Controversies in the management of nonobstructive azoospermia. Fertil Steril 2009 ; 91 : 963–70.

[16] Mitchell V, Robin G, Boitrelle F, et al. Correlation between testicular sperm extraction outcomes and clinical, endocrine and testicular histology parameters in 120 azoospermic men with normal serum FSH levels. Int J Androl 2011 ; 34 : 299–305.

[17] Deruyver Y, Vanderschueren D, Van der Aa F. Outcome of microdissection TESE compared with conventional TESE in non-obstructive azoospermia : a systematic review. Andrology 2014 ; 2 : 20–4.

Chapitre 23

La partie laboratoire : IMSI, ICSI, embryoscopie, culture prolongée, éclosion assistée

M. Poulain

La prise en charge en France de couples infertiles en assistance médicale à la procréation (AMP) s'inscrit dans un cadre légal précis défini par la loi de bioéthique du 29 juillet 1994. Les activités d'AMP dans le cadre d'une fécondation *in vitro* (FIV) comprennent, pour la partie biologique, le traitement des gamètes (spermatozoïdes et ovocytes) et leur conservation en vue d'une FIV, la mise en fécondation avec ou sans micromanipulation, la culture embryonnaire et la conservation des embryons en vue d'un transfert.

Ces actes d'AMP sont réalisés sous la responsabilité de praticiens justifiant d'une formation spécialisée et exerçant dans une structure autorisée par l'agence régionale de santé (ARS). La mise en œuvre des processus biologiques est soumise à accréditation (norme ISO15189) assurant un respect des bonnes pratiques en AMP.

Dans ce chapitre, certaines techniques particulières mises en œuvre au laboratoire seront présentées depuis la mise en fécondation des gamètes (*intracytoplasmic sperm injection* ou ICSI, *intracytoplasmic morphologically selected sperm injection* ou IMSI) jusqu'à la sélection des embryons candidats au transfert ou à la cryopréservation (embryoscopie) et le transfert embryonnaire *(hatching)*.

Mise en fécondation des gamètes avec micromanipulation : ICSI et IMSI

Le jour du recueil ovocytaire, les gamètes masculins – les spermatozoïdes – sont préparés au laboratoire. Le conjoint effectue un recueil de sperme par masturbation. Les spermatozoïdes les plus mobiles et de morphologie la plus typique sont sélectionnés et leur pouvoir fécondant activé par centrifugation sur un gradient de densité (billes de silice) [1]. Dans certains cas, les spermatozoïdes peuvent être préparés à partir de sperme congelé (conjoint ou donneur anonyme) ou suite à un prélèvement chirurgical (pulpe testiculaire, ponction épididymaire). Les critères spermatiques orienteront le biologiste pour la technique de mise en fécondation à choisir. Une mise en fécondation avec micromanipulation, ou ICSI (intracytoplasmic sperm injection) sera effectuée lorsque moins de 500 000 spermatozoïdes mobiles seront récupérés après préparation, lors de présence d'anticorps antispermatozoïdes, FIV avec sperme chirurgical ou échec connu de fécondation en FIV conventionnelle.

Dans ce cas, l'ovocyte est débarrassé des cellules du cumulus qui l'entoure grâce à l'action enzymatique de la hyaluronidase qui clive les ponts d'acide hyaluronique entre les cellules [2, 3]. Cette étape constitue la décoronisation des ovocytes et permet d'apprécier le stade de maturation nucléaire des ovocytes. Les ovocytes recueillis au cours de la ponction ovocytaire peuvent être au stade de prophase I (vésicule germinative), de métaphase I (rupture de la vésicule germinative mais non expulsion du premier globule polaire) ou au stade de métaphase II (premier globule polaire expulsé). Un spermatozoïde sera micro-injecté dans chaque ovocyte fécondable au stade de métaphase II à l'aide d'un micromanipulateur (figure 23.1a).

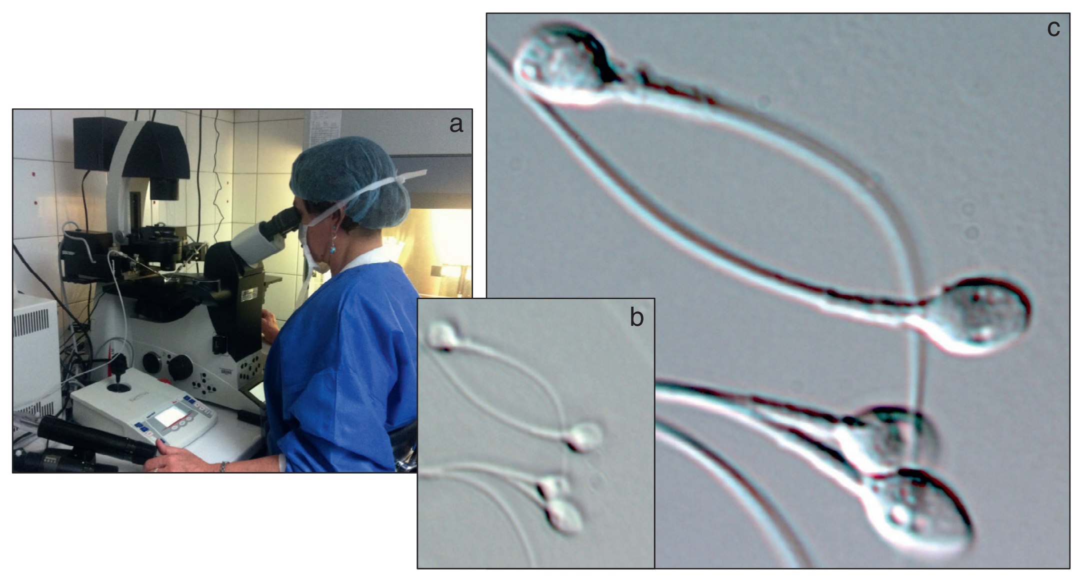


Figure 23.1 Mise en fécondation avec micromanipulation.
a. Poste de micro-injection pour l'ICSI et l'IMSI.
b. Spermatozoïdes au grossissement d'ICSI.
c. Champ identique au grossissement d'IMSI. Des vacuoles sont alors visibles dans la tête des spermatozoïdes.

L'opérateur sélectionne les spermatozoïdes les plus mobiles et de morphologie la plus typique possible pour la micro-injection. Cependant, même si les principales anomalies morphologiques spermatiques sont observables au grossissement utilisé en ICSI (× 400), il n'est pas possible d'analyser finement les spermatozoïdes à ce grossissement. Le choix du spermatozoïde pour l'injection est pourtant très important et influence le bon déroulement de la fécondation et du développement embryonnaire. Une technique de sélection du spermatozoïde pour l'injection à très fort grossissement (× 1000), l'IMSI *(intracytoplasmic morphologically selected sperm injection)* a été développée dans le but d'optimiser les taux de fécondation, le développement pré-implantatoire, les taux d'implantation et le déroulement de la grossesse en FIV [4–10]. À ce grossissement, il est possible d'observer plus en détail la morphologie des spermatozoïdes, notamment la présence de vacuoles au niveau de la tête spermatique (figure 23.1b et c). Cependant, à ce jour, la corrélation positive entre la technique d'IMSI et les taux de succès en FIV n'est pas démontrée et reste sujette à controverse [11–14], cette technique pouvant être délétère par une exposition plus longue des ovocytes à l'environnement extérieur si elle n'est pas maîtrisée. De plus, l'origine des vacuoles spermatiques et leur impact sur le développement embryonnaire restent à élucider. À l'heure actuelle, les indications d'un test pré-IMSI permettant d'évaluer l'intérêt de cette technique pour répondre aux attentes du couple sont : antécédents d'échecs d'implantation ou fausses couches spontanées (FCS) à répétition; taux de fragmentation de l'ADN spermatique élevé; absence de blastocyste après culture prolongée et infertilités inexpliquées.

Culture embryonnaire : culture prolongée et *time lapse*

Depuis le jour du recueil ovocytaire jusqu'au dernier jour de culture embryonnaire, le processus de culture *in vitro* doit être le plus optimal possible. Le laboratoire doit s'assurer de l'homéostasie du système (température constante de 37 °C, pH du milieu de culture entre 7,2–7,4 et osmolarité constante). Pour cela, les incubateurs sont reliés à un système de surveillance de la température et des taux de gaz (CO_2, O_2 et N_2), le pH des milieux de culture est contrôlé et les embryons sont cultivés en microgouttes sous huile minérale.

Classiquement, les embryons sont régulièrement sortis de l'incubateur pour observer sous le microscope :

- les premiers signes de fécondation 18 à 22 h après mise en contact des gamètes : présence des deux pronoyaux (PN) mâle et femelle et expulsion du second globule polaire lors d'une fécondation normale [15] ;
- un éventuel premier clivage précoce du zygote 25 à 27 h après mise en fécondation, positivement corrélé avec le taux d'implantation [16, 17] ;
- la morphologie aux 2e, 3e, 5e et 6e jours de développement.

L'observation journalière des embryons permet de les classer en fonction de leur potentiel de développement selon des critères morphologiques. La standardisation de ce classement permet une homogénéisation des critères de choix pour les embryons candidats au transfert et à la cryopréservation [18].

Culture prolongée

Il est possible de pratiquer une culture prolongée des embryons jusqu'au stade de blastocyste (J5 ou 6). À ce stade, l'embryon est différencié et présente une cavité remplie d'un liquide, le blastocèle, tapissée de cellules du trophectoderme (futures annexes embryonnaires), et un amas cellulaire, la masse cellulaire interne (futur fœtus). La culture jusqu'au stade blastocyste permet :

- un transfert plus « physiologique ». En effet, au cours de la reproduction naturelle, c'est à ce stade que l'embryon arrive dans la cavité utérine. De plus, les contractions utérines seraient moins importantes lors du transfert au stade blastocyste que lors d'un transfert au stade clivé, ce qui serait bénéfique pour l'implantation [19] ;
- la sélection des embryons avec le meilleur potentiel de développement pour le transfert et la cryopréservation. En effet, l'embryon se développe initialement grâce aux réserves accumulées dans l'ovocyte. À partir du 3e jour de développement, le génome embryonnaire s'active et l'embryon doit devenir autonome [20]. Il est établi qu'environ 50 % seulement des embryons conçus *in vitro* atteignent le stade de blastocyste et seraient moins fréquemment porteurs d'aberrations chromosomiques que les embryons n'atteignant pas ce stade [21].

Cependant, peu de centres proposent cette stratégie de façon systématique, même si la culture prolongée apporte de nombreux avantages en termes de :

- sélection et viabilité embryonnaire au cours de la culture *in vitro* [22] ;
- taux d'implantation plus élevé favorisant le transfert électif d'un embryon [23] ;
- grossesses multiples et taux de naissances vivantes [24, 25].

En effet, la culture prolongée exige un programme optimal de culture *in vitro*. Le choix d'un milieu de culture performant et adapté est essentiel. Le métabolisme de l'embryon va changer entre le stade clivé et le stade blastocyste et les exigences nutritives vont différer. L'équipement au laboratoire doit être suffisant pour assumer une culture des embryons pendant 5 à 6 jours en évitant au maximum un stress embryonnaire. Le nombre d'incubateurs doit être plus important pour éviter des ouvertures/fermetures trop fréquentes des chambres d'incubation pouvant perturber l'environnement de culture et affecter les taux de succès [26]. L'observation et l'harmonisation de l'évaluation de l'embryon à ce stade sont également plus délicates et nécessitent un personnel formé à la lecture embryonnaire au stade blastocyste. Une classification internationale a été proposée par le groupe de travail de l'ESHRE pour harmoniser les pratiques [27]. Enfin, le programme de cryopréservation à ce stade doit être maîtrisé. La technique de congélation par vitrification a permis aux équipes d'AMP d'obtenir de très bons taux de survie et d'implantation au stade de blastocyste après décongélation [28].

Embryoscopie

Même si traditionnellement l'évaluation du potentiel des embryons *in vitro* se limite à des critères d'observations morphologiques à des temps déterminés, il est important de rappeler que le développement embryonnaire est un phénomène dynamique continu. La cinétique de division embryonnaire peut apporter de nouveaux arguments quant au potentiel de ces embryons, mais les sortir plus fréquemment de l'environnement contrôlé en température et gaz de l'incubateur est délétère. L'introduction

en routine de la technologie de *time lapse* dans les laboratoires d'AMP a permis de résoudre ce problème. La prise régulière de clichés de l'embryon sur différents plans focaux tout au long de la culture permet d'observer son développement en continu en l'exposant très peu à la lumière et à l'environnement extérieur (figure 23.2). Ce système permettrait d'optimiser les conditions de culture en gardant les embryons dans un environnement clos et contrôlé et éviter des stress de l'environnement extérieur (manipulation, lumière, composés volatils toxiques). Plusieurs études relatent une corrélation entre les paramètres de ***time lapse*** et la viabilité, la compétence et le statut euploïde des embryons [29]. En effet, un schéma de dynamique optimale des divisions cellulaires (le temps exact de survenue d'une division cellulaire, sa durée et l'intervalle de temps entre les différentes divisions) pourrait prédire la compétence de l'embryon. La majorité de ces résultats sont cependant issus d'études prospectives non randomisées et nécessitent d'être confirmés.

Éclosion assistée ou *hatching*

L'ovocyte est entouré d'une matrice acellulaire glycoprotéique de 10 à 20 µm d'épaisseur, la zone pellucide (ZP). Cette enveloppe se modifie après fécondation pour bloquer une polyspermie et protège l'embryon au cours des premières divisions. Elle s'affine au stade blastocyste pour enfin se rompre et laisser l'embryon « éclore », avant l'implantation.

Les échecs d'implantation en FIV peuvent résulter de l'impossibilité de l'embryon à sortir de la ZP et éclore. Il a été proposé d'affiner ou perforer la ZP avant le transfert embryonnaire pour améliorer les résultats. C'est la technique d'éclosion assistée

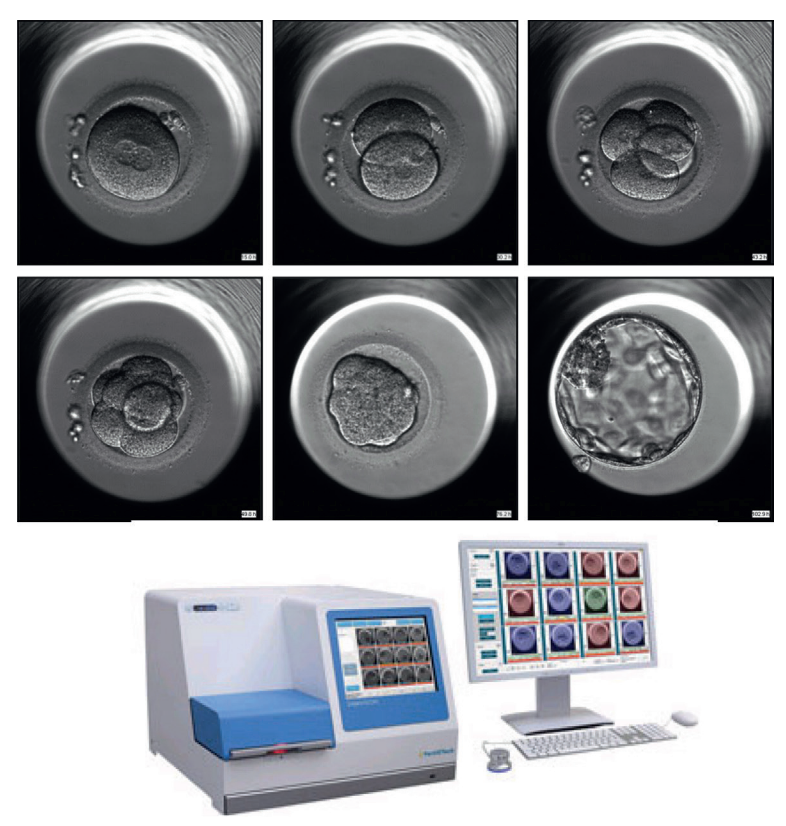


Figure 23.2 Observation des embryons du stade 2PN au stade de blastocyste par un système de *time lapse* avec l'EmbryoScope®.
Source : images fournies par le laboratoire Vitrolife.

ou *hatching*. La ZP peut être fragilisée (affinée sur une large surface ou perforée ponctuellement) par une méthode mécanique (dissection partielle de la ZP), enzymatique (digestion par la pronase), chimique (solution de thyrode acide) ou par technologie laser (objectif du microscope équipé d'un faisceau infrarouge) [30, 31].

Les principales indications d'éclosion assistée sont :

- une zone pellucide anormalement épaisse (> 15 µm) ou dense ;
- des échecs d'implantation répétés ;
- un âge maternel avancé ou un taux de FSH *(follicle-stimulating hormone)* en phase folliculaire élevé ;
- des embryons décongelés.

Même si la méta-analyse de la Cochrane souligne un niveau de preuve insuffisant pour conclure au bénéfice de l'éclosion assistée [32], certaines indications comme les échecs répétés semblent plus robustes que l'âge maternel avancé ou la décongélation embryonnaire. Dans tous les cas, cette technique n'est pas délétère et les risques pour l'embryon sont quasiment nuls. L'éclosion assistée avait été incriminée dans la survenue de grossesses gémellaires monozygotiques mais les données sur ce sujet sont insuffisantes pour conclure [32].

Références

[1] Mortimer D. Sperm recovery techniques to maximize fertilizing capacity. Reprod Fertil Dev 1994 ; 6 : 25–31.

[2] Evison M, Pretty C, Taylor E, Franklin C. Human recombinant hyaluronidase (cumulase) improves intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1998 ; 13 : 1933–5.

[3] Ebner T, Moser M, Sommergruber M, et al. Incomplete dénudation of oocytes prior to ICSI enhances embryo quality and blastocyst development. Hum Reprod 2006 ; 21 : 2972–7.

[4] Delaroche L, Yazbeck C, Gout C, et al. Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI) after repeated IVF or ICSI failures : a prospective comparative study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2013 ; 167 : 76–80.

[5] Junca AM, Cohen-Bacrie P, Hazout A. Improvement of fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic fine morphologically selected sperm injection. Fertil Steril 2004 ; 82 : S173.

[6] Vanderzwalmen P, Hiemer A, Rubner P, et al. Blastocyst development after sperm selection at high magnification is associated with size and number of nuclear vacuoles. Reprod Biomed Online 2008 ; 17 : 617–27.

[7] Ebner T, Moser M, Sommergruber M, et al. Occurrence and developmental consequences of vacuoles throughout preimplantation development. Fertil Steril 2005 ; 83 : 1635–40.

[8] Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, et al. Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. Fertil Steril 2003 ; 80 : 1413–9.

[9] Balaban B, Yakin K, Alatas C, et al. Clinical outcome of intracytoplasmic injection of spermatozoa morphologically selected under high magnification : a prospective randomized study. Reprod Biomed Online 2011 ; 22 : 472–6.

[10] Berkovitz A, Eltes F, Paul M, et al. The chance of having a healthy normal child following intracytoplasmic morphologically-selected sperm injection (IMSI) treatment is higher compared to conventional IVF-ICSI treatment. Fertil Steril 2007 ; 88 : S20.

[11] Setti AS, Braga DP, Figueira RC, et al. Poor-responder patients do not benefit from intracytoplasmic morphologically selected sperm injection. J Assist Reprod Genet 2015 ; 32 : 445–50.

[12] Teixeira DM, Barbosa MA, Ferriani RA, et al. Regular (ICSI) versus ultra-high magnification (IMSI) sperm selection for assisted reproduction. Cochrane Database Syst Rev 2013 ; 7 : CD010167.

[13] Leandri R, Gachet A, Pfeffer J, et al. Is intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI) beneficial in the first ART cycle ? a multicentric randomized controlled trial. Andrology 2013 ; 1 : 692–7.

[14] Setti AS, Braga DP, Figueira RC, et al. Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection results in improved clinical outcomes in couples with previous ICSI failures or male factor infertility : a meta-analysis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2014 ; 183 : 96–103.

[15] Scott LA, Smith S. The successful use of pronuclear embryo transfers the day following oocyte retrieval. Hum Reprod 1998 ; 13 : 1003–13.

[16] Shoukir Y, Campana A, Farley T, Sakkas D. Early cleavage of in-vitro fertilized human embryos to the 2-cell stage : a novel indicator of embryo quality and viability. Hum Reprod 1997 ; 12 : 1531–6.

[17] Hesters L, Prisant N, Fanchin R, et al. Impact of early cleaved zygote morphology on embryo development and in vitro fertilization embryo transfer outcome : a prospective study. Fertil Steril 2008 ; 89 : 93–100.

[18] The Istambul consensus workshop on embryo assessment : proceedings of an expert meeting. Reproductive Biomedecine Online 2011 ; 22 : 632–46.

[19] Fanchin R, Ayoubi JM, Righini C, et al. Uterine contractility decreases at the time of blastocyst transfers. Hum Reprod 2001 ; 16 : 1115–9.

[20] Duranthon V, Watson AJ, Lonergan P. Preimplantation embryo programming : transcription, epigenetics, and culture environment. Reproduction 2008 ; 135 : 141–50.

[21] Capalbo A, Bono S, Spizzichino L, et al. Sequential comprehensive chromosome analysis on polar bodies, blastomeres and trophoblast : insights into female meiotic errors and chromosomal segregation in the preimplantation window of embryo development. Hum Reprod 2013 ; 28 : 509–18.
[22] Poulain M, Hesters L, Sanglier T, et al. Is it acceptable to destroy or include human embryos before day 5 in research programmes ? Reprod Biomed Online 2014 ; 28 : 522–9.
[23] Quea G, Romero K, Garcia-Velasco JA. Extended embryo culture to increase implantation rate. Reprod Biomed Online 2007 ; 14 : 375–83.
[24] Blake DA, Farquhar CM, Johnson N, Proctor M. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception. Cochrane Database Syst Rev 2007 ; 4 : CD002118.
[25] Franasiak JM, Dondik Y, Molinaro TA, et al. Blastocyst transfer is not associated with increased rates of monozygotic twins when controlling for embryo cohort quality. Fertil Steril 2015 ; 103 : 95–100.
[26] Higdon third. HL, Blackhurst DW, Boone WR. Incubator management in an assisted reproductive technology laboratory. Fertil Steril 2008 ; 89 : 703–10.
[27] Hardarson T, Van Landuyt L, Jones G. The blastocyst. Hum Reprod 2012 ; 27 : i72–91.
[28] Liebermann J. Vitrification : a simple and successful method for cryostorage of human blastocysts. Methods Mol Biol 2015 ; 1257 : 305–19.
[29] Kirkegaard K, Ahlström A, Ingerslev HJ, Hardarson T. Choosing the best embryo by time lapse versus standard morphology. Fertil Steril 2015 ; 103 : 323–32.
[30] Feng HL, Hershlag A, Scholl GM, Cohen MA. A retroprospective study comparing three different assisted hatching techniques. Fertil Steril 2009 ; 91(4 Suppl) : 1323–5.
[31] Balaban B, Urman B, Alatas C, et al. A comparison of four different techniques of assisted hatching. Hum Reprod 2002 ; 17 : 1239–43.
[32] Da S, Blake D, Farquhar C, Seif MMW. Assisted hatcing on assisted conception (IVF and ICSI). Cochrane review. The Cochrane library 2009 ; 2 : CD001894.

Chapitre 24

La fécondation *in vitro* : techniques, équipements et qualité au laboratoire d'assistance médicale à la procréation

L. Hesters, A. Le Bras-Mayeur, N. Achour-Frydman

Si les techniques de fécondation *in vitro* (FIV) en elles-mêmes ont peu changé depuis une décennie, c'est sur le plan organisationnel que les laboratoires d'assistance médicale à la procréation (AMP) ont dû faire face à une évolution majeure, du fait de la mise en conformité à des normes réglementaires.

Tout d'abord, les règles de bonnes pratiques par l'arrêté du 3 août 2010 et le décret du 19 juin 2008 déclinant la directive européenne ont exigé la mise en place d'un système de management de la qualité spécifique à la structure AMP [1].

En plus de ces textes, l'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010, ratifiée ensuite par la loi n° 2013-442 du 30 mai 2013, a institué pour tous les laboratoires de biologie médicale (LBM) un régime obligatoire d'accréditation par une instance nationale : le Comité français d'accréditation ou Cofrac [2]. La norme NF EN ISO 15189 spécifie les exigences de qualité et de compétence auxquelles doivent répondre tous les LBM, y compris les laboratoires d'AMP [3].

Ainsi à chaque étape d'une technique (pré-analytique, analytique et post-analytique), le laboratoire d'AMP doit pouvoir prouver qu'il est d'une part bien organisé et d'autre part qu'il est compétent et qu'il maîtrise les risques inhérents à chaque étape.

Les techniques

Une FIV consiste à reproduire en laboratoire ce qui se passe normalement dans les trompes de la femme, dans la première semaine de développement embryonnaire, c'est-à-dire d'une part la fusion entre un ovocyte et un spermatozoïde et d'autre part le développement embryonnaire pré-implantatoire.

Au laboratoire d'AMP, la FIV des ovocytes regroupe deux techniques : la fécondation *in vitro* classique (FIVc) et la fécondation *in vitro* assistée ou *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI). Le choix entre l'une ou l'autre technique dépend du bilan d'infertilité du couple, des paramètres spermatiques initiaux et de la qualité de la préparation spermatique finale.

La culture embryonnaire *in vitro* se déroule sur 2 à 6 jours. Elle peut se faire en puits ou en microgouttes, de manière individuelle ou groupée. Dans la plupart des laboratoires, la culture *in vitro* est réalisée en microgouttes individuelles de milieu de culture (20 à 40 µL) sous huile minérale, ceci afin d'éviter au maximum les variations de température et de pH. La culture individuelle permet de suivre précisément le devenir de chaque ovocyte.

Deux types de milieux de culture peuvent être utilisés pour la culture embryonnaire :

- les milieux séquentiels qui respectent les variations du métabolisme embryonnaire en fonction du stade de développement. Le principe est d'utiliser un milieu du stade zygote au stade embryon clivé (3e jour de développement) et d'utiliser un autre milieu du stade clivé au stade de blastocyste ;
- les milieux globaux qui permettent une culture avec un milieu unique du stade zygote jusqu'au stade blastocyste.

Les boîtes de culture sont préparées la veille et stockées à 37 °C sous une atmosphère contrôlée en CO_2, de manière à obtenir un pH optimal des milieux (entre 7,2 et 7,5 selon les milieux). Les tampons phosphates et surtout bicarbonates sont utilisés couramment pour les cultures. Le tampon carbonates/acide carbonique nécessite un incubateur parfaitement réglé en mélange gazeux. On peut utiliser un mélange gazeux contenant de l'oxygène, du CO_2 et de l'azote. Un mélange « adapté » à chaque situation peut être obtenu par un incubateur « tri-gaz », mais la majorité des centres utilisent l'air ambiant comme source de gaz, ajusté à 5 à 6 % de CO_2 (selon le milieu de culture utilisé). Dans ces incubateurs le pourcentage d'oxygène se situe autour de 20 %.

Recueil d'ovocytes

La ponction ovarienne est réalisée 36 heures après déclenchement de l'ovulation, au bloc opératoire, par voie transvaginale, sous échoguidage. Les liquides folliculaires sont transmis extemporanément au laboratoire ou transportés dans une isolette thermostatée à 37 °C dans le cas d'un laboratoire non contigu au bloc opératoire. Les liquides sont immédiatement examinés sous loupe binoculaire munie d'une platine chauffante à 37 °C. Les complexes cumulo-ovocytaires (CCO) identifiés sont rincés et placés quelques heures dans un milieu de culture préalablement équilibré à 37 °C et sous atmosphère enrichie en CO_2.

Préparation du sperme

Parallèlement, le recueil de sperme est effectué au laboratoire par masturbation. Le but de la préparation est d'éliminer le liquide séminal et de sélectionner les spermatozoïdes progressifs. Plusieurs techniques de préparation peuvent être utilisées :

- la migration descendante sur gradient de densité : c'est la technique la plus utilisée. Elle consiste à déposer le prélèvement de sperme natif sur un gradient de Puresperm® (en général deux fractions de concentrations 45 % et 90 %). Après centrifugation, les spermatozoïdes les plus mobiles sont isolés au niveau du culot de centrifugation et placés dans un milieu permettant leur capacitation ;
- la migration ascendante ou *swim up*. Le sperme est placé dans un milieu de culture et centrifugé, un milieu de culture est rajouté au culot de centrifugation à 37 °C. Les spermatozoïdes les plus mobiles seront récupérés au niveau du surnageant.

En cas de paramètres spermatiques très altérés, un simple lavage est réalisé.

Dans les cas d'azoospermie, un prélèvement chirurgical peut être réalisé. Pour un prélèvement épididymaire, les techniques de préparation sont proches de celle du sperme éjaculé. Pour un prélèvement testiculaire : une étape préalable de dilacération de la pulpe est nécessaire.

Insémination en FIVc

L'insémination des CCO en FIVc a lieu quelques heures après la ponction. Lorsqu'elle est réalisée en microgoutte, chaque complexe est déposé dans une microgoutte de milieu de culture d'environ 40 µL sous huile de paraffine, puis est inséminé avec 5000 à 7000 spermatozoïdes mobiles préalablement préparés. Les CCO sont ensuite placés dans un incubateur à 37 °C sous une atmosphère contrôlée en CO_2 jusqu'au lendemain. Certains laboratoires pratiquent une incubation courte des gamètes. Cette technique consiste à inséminer les CCO avec une quantité de spermatozoïdes plus importante mais pendant un temps relativement court (< 2 h). Cette technique a prouvé son bénéfice pour des couples ayant un antécédent de qualité embryonnaire altérée. Son rationnel repose sur le fait que certains patients seraient porteurs d'un taux élevé de radicaux libres au niveau spermatique qui entraîneraient une altération ovocytaire.

Micro-injection en ICSI

Les CCO sont au préalable décoronisés par exposition enzymatique rapide à une enzyme, la hyaluronidase, puis mécaniquement par refoulement–aspiration grâce à l'utilisation d'une micropipette de 200 µm. Les ovocytes ainsi dénudés sont observés au microscope inversé pour apprécier leur stade de maturation. Seuls les ovocytes en métaphase II (présence du premier globule polaire) sont micro-injectés à l'aide d'un microscope inversé équipé d'une platine chauffante à 37 °C et de micromanipulateurs. Les spermatozoïdes sont préalablement déposés dans un milieu visqueux contenant de la polyvinylpyrrolidone (PVP), ceci permettant de les ralentir. Deux micropipettes sont utilisées pour réaliser l'ICSI : une micropipette de contention servant au maintien et au positionnement de l'ovocyte et une micropipette d'injection permettant de sélectionner un spermatozoïde et de le déposer dans le cytoplasme ovocytaire. Une fois micro-injectés, les ovocytes sont déposés dans des microgouttes de milieu sous huile et placés dans l'incubateur à 37 °C sous une atmosphère contrôlée en CO_2.

Observation du zygote

Elle est réalisée entre 16 et 20 heures post-insémination ou micro-injection. En FIVc, les ovocytes sont d'abord décoronisés mécaniquement à l'aide d'une micropipette puis replacés dans des microgouttes de milieu. En ICSI, les ovocytes peuvent être directement observés. Les signes de fécondation sont alors recherchés. La présence de deux globules polaires et de deux pronuclei témoigne d'une fécondation normale. Une analyse des pronoyaux zygotiques, vecteurs du matériel génétique d'origine ovocytaire et spermatique, est réalisée. Elle tient compte de la position des pronoyaux au sein du zygote, de l'aspect de leur membrane et de leur égalité de taille. Elle considère également la position, la taille, l'aspect, le nombre et la distribution des nucléoles au sein de ces pronoyaux [4].

Culture et observation embryonnaire

Les embryons sont ensuite cultivés en microgouttes sous huile jusqu'au jour du transfert, soit 2 à 6 jours post-ponction.

Au cours de cette culture embryonnaire, la morphologie embryonnaire est minutieusement évaluée à l'aide d'un microscope inversé, l'objectif étant de définir la qualité embryonnaire de manière non invasive et d'appréhender le potentiel implantatoire de chaque embryon. Pour l'embryon clivé (J2/J3), plusieurs classifications différentes sont utilisées au sein des laboratoires : elles tiennent compte du nombre de blastomères présents, de la typicité du clivage, de la proportion de fragments anucléés, de la présence de blastomères multinucléés (BMN) et de la cinétique de développement. Pour le blastocyste (J5/J6), la majorité des laboratoires utilisent la classification de Gardner qui prend en compte le degré d'expansion de l'embryon (taille du blastocoele), l'aspect du trophectoderme et de la masse cellulaire interne [5]. Depuis 2011, un consensus européen publié sur les critères pertinents à prendre en considération lors de l'observation microscopique de l'embryon peut faire office de référence [6].

Transfert embryonnaire

Le transfert des embryons *in utero* a lieu entre 2 et 6 jours post-ponction. Après observation et choix des embryons à transférer, le transfert est réalisé sous contrôle échographique à l'aide d'un cathéter.

Congélation embryonnaire

En cas d'embryons surnuméraires ou de transfert différé, les embryons peuvent être congelés, ceci à différents stades de développement (J1, J2, J3, J5 ou J6).

La congélation lente est la méthode la plus ancienne. Elle utilise des cryoprotecteurs (propanediol, sucrose) à faible concentration (1,5 M) associés à une descente lente en température à l'aide d'un congélateur programmable (–0,3 °C/min), ceci entraînant une déshydratation lente et progressive de l'échantillon. Cette technique tend aujourd'hui à disparaître au bénéfice de la vitrification, technique offrant de meilleurs résultats en termes de survie embryonnaire et de taux de grossesses.

La vitrification utilise une association de cryoprotecteurs diffusibles (propanediol, DMSO, glycérol) et non diffusibles (sucrose, saccharose) à haute concentration (7 M) et une descente

ultrarapide en température, ceci entraînant une déshydratation ultrarapide sans formation de cristaux de glace. L'extrême rapidité du refroidissement est obtenue grâce à la taille réduite de l'échantillon et à l'utilisation d'un support spécifique. Deux types de support de vitrification sont disponibles : les systèmes ouverts avec un contact direct de l'échantillon avec l'azote liquide (– 20 000 °C/min) et les systèmes fermés qui sont hermétiquement scellés par soudure thermique aux deux extrémités avant contact avec l'azote liquide (– 1500 °C/min).

Maturation *in vitro*

La maturation *in vitro* (MIV) est une technique particulière d'AMP, proposée dans certaines indications : syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), contre-indication à la stimulation ovarienne, prise en charge en urgence dans le cadre d'une préservation de la fertilité (délai insuffisant pour réaliser une stimulation ovarienne). La MIV consiste à ponctionner en phase folliculaire des follicules antraux de 2 à 7 mm sur des ovaires non stimulés [7]. La ponction folliculaire est réalisée 36 h après l'injection d'hCG *(human chorionic gonadotropin)* par voie transvaginale échoguidée sous anesthésie générale. Les CCO sont récupérés dans des tubes contenant de l'héparinate de sodium à 2 UI/mL pour éviter la coagulation du liquide de ponction en raison de son caractère sanglant. Les CCO sont isolés au laboratoire sous loupe binoculaire et rincés dans un milieu de culture simple. Ils sont ensuite placés dans un milieu de maturation synthétique supplémenté en protéines (20 % de sérum maternel décomplémenté) et gonadotrophines (*follicle-stimulating hormone* ou FSH 0,75 UI/mL, *luteinizing hormone* ou LH 0,75 UI/mL) afin de permettre à l'ovocyte d'achever sa maturation. Après 24 h de culture, tous les ovocytes sont décoronisés. Les ovocytes en métaphase II sont inséminés par ICSI et les ovocytes immatures (stade prophase I et métaphase I) sont remis en culture dans les mêmes conditions pendant 24 h. Après 48 h de culture, une seconde ICSI peut être réalisée pour les ovocytes matures supplémentaires.

Les étapes suivantes (observation du zygote, culture et observation embryonnaires, transfert, congélation) sont identiques à celles présentées précédemment.

Qualité au laboratoire d'AMP : la maîtrise des risques

Outre le système documentaire devant être mis en place, le laboratoire d'AMP doit également satisfaire aux exigences techniques de la norme NF 15189.

Une étude de la gestion des risques doit être réalisée afin d'apporter la preuve que le laboratoire maîtrise l'intégralité des étapes techniques et garantit la fiabilité des résultats rendus. La méthodologie utilisée suit en général la règle des 5 M (figure 24.1).

Méthodes

Les modes opératoires doivent être rédigés, diffusés et suivis dans l'exécution des tâches par l'ensemble du personnel. Ils doivent être disponibles sur un réseau informatique et consultables par le personnel à tout moment. Chaque tâche doit être définie dans l'espace et organisée de telle sorte qu'elle limite le déplacement des boîtes contenant des échantillons dans l'espace. Par exemple, il est conseillé d'effectuer une ICSI à côté d'une hotte pour pouvoir placer les ovocytes injectés dans leur boîte de culture le plus rapidement possible. Cette hotte doit être à proximité de l'incubateur dans lequel sera placée cette boîte.

Les modes opératoires doivent prendre en compte le parcours des échantillons dans le laboratoire au fil des jours, notamment dans les différents incubateurs. Ils doivent également décrire comment sont remplis les différents supports d'enregistrements et comment est assurée la traçabilité de l'intégralité de ces documents.

La revue des modes opératoires doit être réalisée selon une fréquence définie (en général tous les ans, au maximum tous les 2 ans). Toute modification des pratiques doit entraîner la rédaction d'une nouvelle version, et l'archivage de l'ancienne version, ceci permettant une traçabilité précise et exhaustive des pratiques au sein du laboratoire.

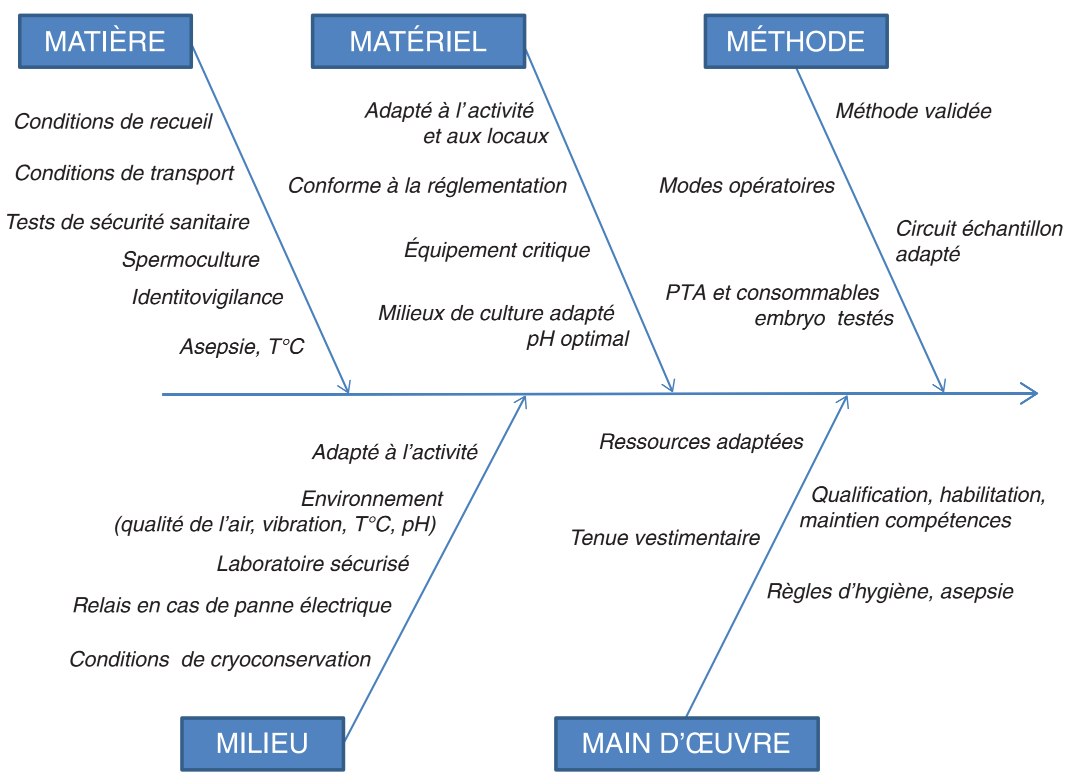


Figure 24.1 **Exemple d'une étude de risque.**

Concernant les produits thérapeutiques annexes (PTA) et consommables, un marquage CE est obligatoire pour pouvoir les utiliser en AMP. Il faut préciser si les modes opératoires sont adaptés selon la fiche du fournisseur. Le suivi des numéros de lot doit être mis en place : ainsi il est classique d'archiver le numéro de lot, la date d'utilisation ainsi que la date de péremption pour chaque PTA et consommable utilisé au laboratoire. Enfin l'organisation de la gestion des stocks, grâce à un inventaire régulier du stock, doit permettre de maîtriser le risque de survenue de rupture de stock de consommables ou PTA.

Matériel

L'arrêté du 3 août 2010 stipule le matériel minimum devant être disponible dans tout laboratoire d'AMP. Il est bien entendu à adapter au volume d'activité de ce dernier, notamment en termes de nombre d'incubateurs, afin de garantir des conditions de culture optimales. Le laboratoire doit tenir à jour la liste et la localisation du matériel existant au laboratoire d'AMP et définir la conduite à tenir en cas de panne de matériel (procédure dégradée). Ainsi, chaque équipement doit pouvoir être substitué par son équivalent en cas de panne (hotte, centrifugeuse, incubateur, micromanipulateur, cuve de stockage, réfrigérateur, platine chauffante). Pour l'ensemble du matériel, la traçabilité des maintenances, calibrations et étalonnages est impérative.

Par ailleurs, il faut veiller à la sécurité du personnel. Ainsi, les hottes utilisées pour toutes les techniques doivent être à flux laminaires verticaux.

Le laboratoire doit être équipé d'un système informatique sécurisé qui permet la saisie des données et leur sauvegarde, l'établissement d'un compte rendu pour les médecins prescripteurs et les patients. La saisie est en général assurée par les techniciens de laboratoire et vérifiée par des biologistes qui émettent une prestation de conseil.

Le second aspect qui doit être abordé est la définition des équipements critiques, c'est-à-dire ceux

ayant une influence sur la qualité des résultats de l'AMP et qui nécessitent un suivi métrologique. Dans un laboratoire d'AMP, ils correspondent aux réfrigérateurs (stockage des PTA sensibles aux conditions de conservation), aux incubateurs (culture embryonnaire nécessitant une maîtrise de la température et du CO_2) et aux platines chauffantes sur lesquelles les ovocytes ou les embryons sont manipulés ou observés.

Concernant la température des enceintes (incubateur, réfrigérateur), il faut avoir défini une température d'utilisation (37 °C pour un incubateur et 4 °C pour un réfrigérateur) et effectué une cartographie avant toute utilisation de l'appareil. Cette cartographie consiste à évaluer la température sur plusieurs points situés à différents endroits au sein de l'enceinte afin d'évaluer si la température est homogène. Lorsque la cartographie est conforme, elle est valable 5 ans.

Puis il faut définir ses besoins et spécifications, en termes de tolérances de variation et de valeur maximale tolérée (écart maximal toléré ou EMT). En général en AMP, la valeur cible d'un incubateur est de 37 °C ± 1 °C, au-delà de 38 °C et en deçà de 36 °C la culture embryonnaire est considérée en danger. Pour un réfrigérateur utilisé pour le stockage des PTA, il faut se conformer aux recommandations du fournisseur qui définit souvent les conditions de stockage entre 2 et 8 °C. Ces enceintes étant considérées comme critiques, le suivi de la température de l'enceinte doit être réalisé en continu selon une périodicité définie par le laboratoire au moyen de sondes de température raccordées à un système informatique d'enregistrement. Ce système doit permettre d'alerter l'utilisateur 24 h/24 en cas de température mesurée en dehors de l'écart toléré. Ces sondes de mesure de température doivent être étalonnées annuellement par un organisme certifié. Le laboratoire doit également être en mesure de prouver qu'il analyse régulièrement les courbes de suivi afin de dépister une dérive de la température.

Concernant les platines chauffantes, il est possible de mesurer la température directement dans des microgouttes de milieu de culture à l'aide d'un thermomètre spécialement conçu pour cette mesure (sonde de température extrêmement fine). Ces mesures ne peuvent se faire en continu mais elles doivent être pratiquées régulièrement. Afin d'obtenir une température de 37 °C dans une goutte de milieu, il faut parfois régler la température de la platine à 39 °C. Cette consigne doit être tracée sur chaque platine chauffante (hotte, microscope) à chaque vérification.

Concernant le CO_2, les milieux de cultures sont tamponnés par des ions HCO_3- et équilibrés en permanence via un apport constant en CO_2 qui doit permettre le maintien d'un pH compris en général entre 7,2 et 7,4. Pour chaque milieu utilisé, il faut vérifier les recommandations fournies par le fournisseur. La maîtrise d'une atmosphère contrôlée en CO_2 dans un incubateur est donc nécessaire à la bonne maîtrise du pH de ce milieu. Une valeur trop basse en CO_2 entraînera une consommation d'ion H+ et une alcalinisation du milieu. À l'inverse un excès de CO_2 entraînera une acidification du milieu. Il faut donc vérifier pour chaque nouveau lot de milieu de culture, si le taux de CO_2 appliqué dans l'incubateur, dans lequel il est utilisé, permet d'obtenir une valeur de pH comprise dans l'intervalle souhaité. De plus, il faut définir les valeurs du CO_2 à partir desquelles le pH sort de cet intervalle, c'est-à-dire l'EMT en CO_2. Pour cela, une étude préalable à l'utilisation d'un milieu de culture doit être réalisée : la mesure du pH dans le milieu en fonction de différents taux de CO_2 appliqués dans un incubateur permet de définir cet EMT. Pour les laboratoires équipés de sondes externes mesurant le taux de CO_2 en continu, l'EMT permet de définir les seuils des alarmes.

Milieu

Le premier aspect concerne le micro-environnement des gamètes/embryons, c'est-à-dire les conditions de culture et de manipulations. Nous avons déjà évoqué la nécessité de maîtriser les risques liés aux variations de température et de pH. La qualité du milieu de culture utilisé doit également être évaluée par comparaison entre différents types de milieux afin de démontrer que le choix fait par le laboratoire est pertinent. Les risques d'erreur d'asepsie et d'erreur d'attribution des gamètes ou embryons doivent également être maîtrisés. Certains mettent en place une vérification de tous les actes critiques par deux personnes (identification des flacons, des boîtes de culture, mise en contact des gamètes, transfert embryonnaire, congélation, décongélation). À toutes les

étapes, l'identité de chaque opérateur ainsi que l'heure de réalisation doivent être tracées sur le dossier patient.

Le second aspect concerne le laboratoire dans son ensemble. Il doit être sécurisé afin de ne permettre l'entrée qu'aux personnes habilitées. En cas de visite d'une personne extérieure à l'équipe, l'identité de la personne doit être tracée et une charte de confidentialité signée. Par ailleurs, le laboratoire doit être équipé d'une alarme anti-intrusion et d'un relais en cas de défaillance électrique. De plus, il doit posséder des détecteurs de fumée et une alarme incendie. L'organisation géographique du laboratoire doit limiter au maximum le déplacement des échantillons. Afin de maîtriser les risques liés à la manipulation de l'azote liquide, il doit posséder une pièce réservée à la congélation et au stockage des échantillons. Les recommandations sur la structure de cette pièce sont précisément décrites dans l'arrêté du 3 août 2010 sur les bonnes pratiques en AMP. Le local doit notamment être équipé d'une alarme en cas de chute brutale de l'O_2. De plus, une cagoule protectrice doit être disponible ainsi que des lunettes protectrices et des gants. Le transport d'échantillons congelés doit être effectué à l'aide de containers spécifiques.

La qualité de l'air au laboratoire est également un point important à maîtriser, en général les laboratoires sont en surpression et la présence d'un sas est nécessaire afin de permettre un habillage du personnel et le lavage des mains. Il faut pratiquer un comptage particulaire à intervalle régulier et vérifier le niveau de composés organiques volatils qui peuvent être délétères pour le développement embryonnaire. Le bionettoyage du laboratoire doit être pratiqué avec des produits d'entretien ne présentant pas de toxicité connue sur les gamètes ou les embryons aux doses employées. Selon une période définie par le laboratoire, des prélèvements de surface doivent être réalisés afin de vérifier l'efficacité du bionettoyage.

Main-d'œuvre

Le personnel travaillant dans un laboratoire d'AMP doit être équipé d'une tenue de travail adapté permettant de limiter au maximum la rupture d'asepsie ou les erreurs d'asepsie.

La maîtrise de la qualification/habilitation et le maintien continu des compétences du personnel sont un aspect important de la norme NF 15189. L'enjeu est capital puisqu'il permet au laboratoire de prouver que le personnel qui prend en charge les actes d'AMP est compétent pour le faire.

La qualification correspond au parcours de formation que doit suivre l'apprenant basée sur des essais d'aptitude. Dans un laboratoire d'AMP, le parcours de formation d'un acte est souvent constitué de phases d'observation, d'apprentissage sur des échantillons non utilisables et d'exécution sur des cas réels sous surveillance. Chaque laboratoire fixera dans quel ordre les tâches doivent être acquises (figure 24.2), le nombre d'essais nécessaires et réussis avant d'habiliter une personne sur une tâche. Ce parcours doit être tracé et archivé.

L'habilitation consiste à délivrer une autorisation d'exécuter des tâches ou des actions, elle est nominative et doit être signée par le responsable du laboratoire.

La compétence doit être réévaluée périodiquement selon un planning défini par chaque laboratoire en fonction de la criticité de l'acte, il s'agit alors de l'évaluation du maintien des compétences. En AMP les techniques évoluent rapidement, le maintien à jour des compétences des biologistes et du personnel technique est fondamental.

En général dans un laboratoire d'AMP, il est courant de suivre les taux de fécondation obtenus en FIVc et en ICSI, le taux de lyse après ICSI et les taux de grossesses après transfert pour chaque personne participant à ces tâches. Le recueil ovocytaire peut également faire l'objet d'un contrôle du maintien des compétences en vérifiant que l'exécutant a bien reconnu l'ensemble des ovocytes présents dans le liquide folliculaire. Une autre façon d'évaluer le maintien des compétences est de participer à des évaluations externes de la qualité (EEQ) ou d'organiser dans son laboratoire une évaluation interne de la qualité en confrontant par exemple plusieurs personnes en même temps à la même observation microscopique.

Matière

Dans un laboratoire d'AMP, le risque d'expositions à des produits toxiques est limité.

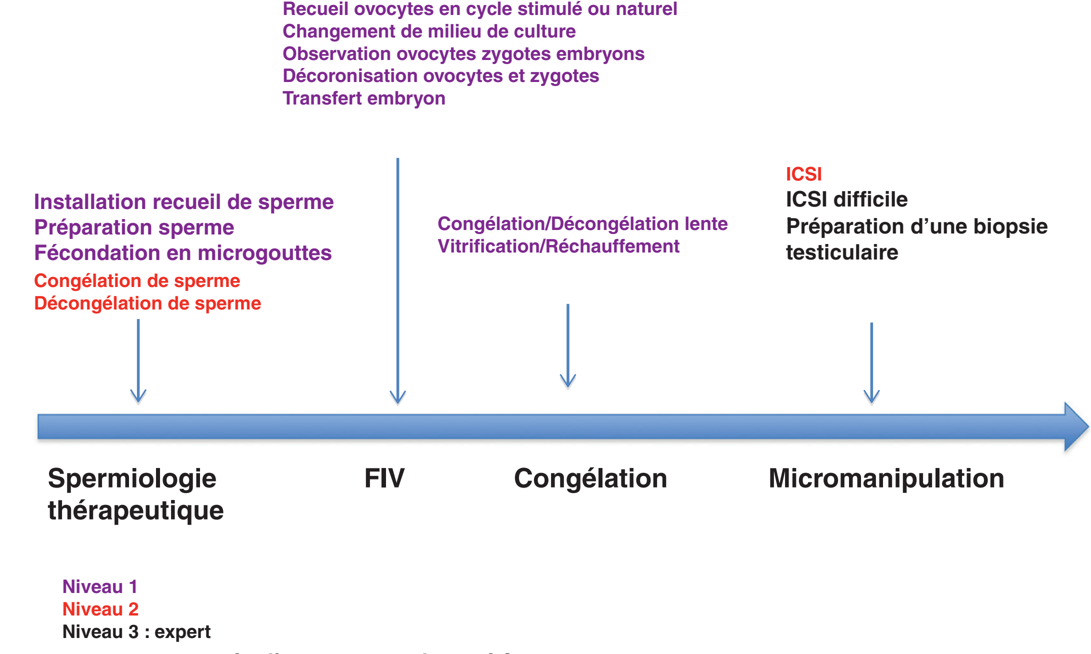


Figure 24.2 **Exemple d'un parcours de qualification organisé en niveau.**

Le risque principal est lié aux manipulations fréquentes d'azote liquide surtout depuis la mise en place de la vitrification. Le personnel doit être sensibilisé aux risques liés à ces manipulations et une procédure doit être disponible en cas d'exposition à l'azote liquide.

Afin de garantir la qualité de l'échantillon, il est primordial de maîtriser l'étape pré-analytique.

Pour chaque couple, les tests de sécurité sanitaire valides ainsi que les résultats de spermoculture doivent être recueillis avant toute prise en charge et conservés dans le dossier. Concernant le recueil de sperme, il est obligatoirement réalisé au laboratoire selon les règles d'identito-vigilance. Des recommandations sur les modalités de recueil doivent être données au patient. Par ailleurs, des informations pouvant avoir un impact sur la qualité du prélèvement doivent être recueillies (délai d'abstinence, prise médicamenteuse, fièvre…).

Concernant le transport d'échantillons congelés, le laboratoire doit posséder une procédure d'accueil et/ou de réception d'échantillons. Il doit également pouvoir mettre à disposition des patients des containers de transport sécurisés afin de garantir la qualité de la cryoconservation des échantillons lors du transport.

Concernant le transport d'échantillons frais, notamment pour les liquides folliculaires dans le cas de laboratoire non contigu au bloc opératoire, des mallettes thermostatées à 37 °C doivent être utilisées. La vérification de la température de ce matériel doit être réalisée selon une périodicité définie.

Il persiste des risques en lien avec l'échantillon primaire (gamètes) et secondaire (embryons). Le premier est l'erreur d'attribution déjà évoqué précédemment, le laboratoire doit avoir mis en place une procédure d'identito-vigilance permettant de limiter au maximum l'erreur qui est toujours dramatique pour les couples et l'équipe en charge. Des systèmes spécifiques à l'AMP basés sur la technologie RFID *(radiofréquence identification)* existent actuellement en matière d'identito-vigilance et de traçabilité des prélèvements. Le principe est de marquer chaque consommable d'une puce RFID qui permet au système de détecter instantanément et en tout temps l'identité du patient dans chaque zone de travail. Lorsque les gamètes ou les embryons sont transférés d'un contenant à l'autre, le système s'assure qu'un seul patient est traité à la fois et protège ainsi l'identité de l'échantillon. Si des échantillons provenant de

patients incompatibles se retrouvent à n'importe quel moment dans le même espace de travail, le système de surveillance lance un avertissement visuel et sonore au personnel de laboratoire.

Le second concerne le risque de contamination de l'échantillon. La contamination bactérienne d'un échantillon peut avoir pour origine le prélèvement en lui-même (sperme infecté et infectant les ovocytes au moment de la FIVc). Ce risque est limité si les conditions pré-analytiques discutées précédemment sont maîtrisées. Mais la contamination peut également être due à une erreur d'asepsie lors d'une manipulation (changement de milieu de culture par exemple). La qualification du personnel et le respect des modes opératoires permettent de maîtriser ce risque. Par ailleurs, l'utilisation de milieux de culture contenant des antibiotiques tend à limiter ces risques de contamination.

Conclusion

L'accréditation des laboratoires d'AMP rendue obligatoire par la loi a poussé les biologistes à développer un système de management de la qualité. En AMP, c'est la maîtrise du risque qui est souvent le plus évaluée. Cependant personne n'est encore capable de démontrer si la mise en place de ce système augmentera les taux de grossesses dans les centres d'AMP.

Références

[1] Arrêté du 3 août 2010 modifiant l'arrêté du 11 avril 2008 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation.
[2] Décret n° 2008-588 du 19 juin 2008 transposant en matière de don de gamètes et d'assistance médicale à la procréation la directive 2004/23/CE du Parlement européen et du Conseil du 31 mars 2004.
[3] Document Cofrac SH. REF 02 – Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon la norme NF EN ISO 15189; 2012.
[4] Scott L. Pronuclear scoring as a predictor of embryo development. Reprod Biomed Online 2003; 6 : 201–14.
[5] Gardner DK, Lane M, Stevens J, et al. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome : towards a single blastocyst transfer. Fertil Steril 2000; 73 : 1155–8.
[6] Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment : proceedings of an expert meeting. Hum Reprod 2011; 26 : 1270–83.
[7] Trounson A, Wood C, Kausche A. In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. Fertil Steril 1994; 62 : 353–62.

Classification des embryons : du zygote au blastocyste

Chapitre 25

M. Dumont

La nécessité d'éviter les grossesses multiples, tout en gardant un taux de grossesses satisfaisant, impose aux équipes d'assistance médicale à la procréation (AMP) de ne transférer le plus souvent qu'un seul embryon. Le choix d'un embryon de bon potentiel implantatoire, au sein d'une cohorte embryonnaire, nécessite d'avoir des critères de sélection non invasifs et faciles à mettre en œuvre en routine. La viabilité des embryons est appréciée, quotidiennement au microscope, sur des données morphologiques et de cinétique de division, à des intervalles prédéfinis. La consultation de banques d'images ou d'atlas sur les embryons est indispensable [1, 2]. Elle permet d'avoir une bonne connaissance du développement embryonnaire et de bien comprendre ce que nous observons au microscope. Des classifications embryonnaires ont été établies, du stade zygote (jour 1 de développement : J1) au stade blastocyste (jours 5 et 6 de développement : J5–J6). Elles ont été discutées par différents groupes d'experts [3–5] dans le but d'homogénéiser les pratiques et nous aider dans nos décisions.

Classification des zygotes et clivage précoce à J1

Qualité des zygotes (score zygotique)

Le stade de fécondation, appelé stade zygote, est observé le matin de J1 soit 17 à 18 h après la mise en contact des gamètes. Il se caractérise par la présence de deux pronucléi (2 PN) et deux globules polaires. L'évaluation de la qualité des deux pronucléi se fait selon un score zygotique (Z-score) qui prend en compte :

- leur emplacement dans le cytoplasme de l'ovocyte : la migration des PN au centre de l'œuf reflète le bon fonctionnement du centriole apporté par le spermatozoïde et nécessaire à la formation du fuseau de microtubules, donc à la division cellulaire ;
- leur taille : une trop grande différence de taille entre les PN est associée à des anomalies chromosomiques telles que des aneuploïdies ;
- la taille, le nombre et la répartition des organisateurs nucléolaires dans chaque pronucléus. En effet, les précurseurs nucléolaires sont tout d'abord nombreux, petits et répartis au hasard dans le volume des pronucléi. Puis ils fusionnent, grossissent et viennent s'aligner dans la zone d'accolement des pronucléi.

Les premiers scores zygotiques ont été proposés par :

- Tesarik et Greco [6] : profils P0 à P5 ;
- Scott *et al.* [7] : profils Z1 à Z4.

Les deux profils P0 correspondent aux deux profils Z1 et Z2. Ils caractérisent des PN symétriques, centrés, de taille identique contenant des nucléoles répartis de façon identique dans chacun d'eux. À titre d'exemple, on doit observer trois à sept organisateurs nucléolaires polarisés dans la zone d'accolement des PN pour le Z1 et des précurseurs nucléolaires plus petits, répartis de façon semblable dans le volume de chaque PN, pour le Z2. Idéalement, on ne doit pas avoir une différence de plus de un précurseur nucléolaire entre les 2 PN. Le profil Z3 caractérise des PN dont la répartition et/ou la taille des nucléoles sont différents dans chaque PN. Le profil Z4 correspond soit à des PN de taille très inégale, soit à des PN distants, non accolés (figures 25.1 et 25.2). La synchronie de développement des zygotes (P0 ou Z1, Z2) est associée à un meilleur taux de blastocystes et un meilleur taux d'implantation des embryons [7, 8]. De plus, les 2 PN centraux,

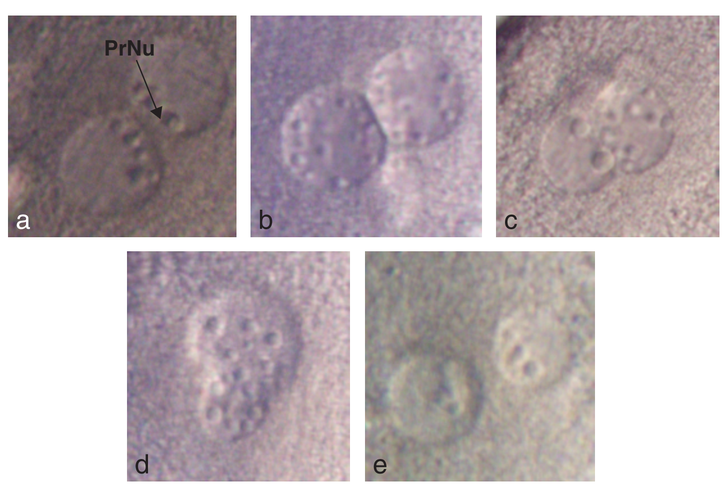


Figure 25.1 Classification des zygotes (2 PN) ou Z-score en fonction du nombre et de la position des précurseurs nucléolaires (PrNu).
a, b. Z1 (a) et Z2 (b) : zygotes synchrones.
c. Z3 : zygotes asynchrones.
d, e. Z4 : zygotes anormaux (inégaux ou éloignés).

Figure 25.2 Développement harmonieux d'un embryon de J1 à J5.
a. 2 PN et deux globules polaires (GP).
b. Clivage précoce à J1, embryon typique à deux cellules mononucléées : 211.
c. Embryon typique à quatre cellules à J2 : 411.
d. Embryon typique à huit cellules à J3 : 811.
e. Embryon au stade de morula compactée à J4, avec disparition des limites cellulaires.
f. Embryon au stade blastocyste à J5 : B4AA. BE : bouton embryonnaire ; T : trophectoderme ; Bl : blastocèle.

juxtaposés et synchrones, situés sur l'axe des deux globules polaires sont fortement associés à l'obtention d'embryons euploïdes [9].

Apparition de la première division de l'embryon ou clivage précoce

L'après-midi de J1, 26 à 27 h post-injection ou 28 à 29 h post-insémination, on peut observer l'évolution des zygotes. À cette étape de développement, le zygote est soit toujours à 2 PN, soit en syngamie avec disparition des 2 PN, soit un embryon à deux blastomères, s'il a déjà réalisé sa première division cellulaire ou clivage précoce [10]. À ce stade, il est possible de voir une fragmentation précoce des embryons ou des blastomères multinucléés. On peut aussi constater des anomalies de la fécondation (stade 2 PN devenu stade 3 PN). Le clivage précoce est un critère facile à observer (voir figure 25.2), il est un bon indicateur de la qualité embryonnaire à J2 [11]. Les embryons de morphologie satisfaisante à J2 ayant une division précoce harmonieuse (deux blastomères réguliers sans fragmentation et sans blastomère polynucléé) ont un meilleur taux d'implantation que ceux issus de divisions précoces irrégulières [12, 13] et un meilleur taux de naissance [14].

Classification des embryons au stade précoce (J2–J3)

Les classifications portent sur le nombre et la taille des blastomères, ainsi que sur le taux de fragmentation ou d'exsudats anucléés présents [3, 5]. Le statut nucléaire des blastomères doit aussi être noté.

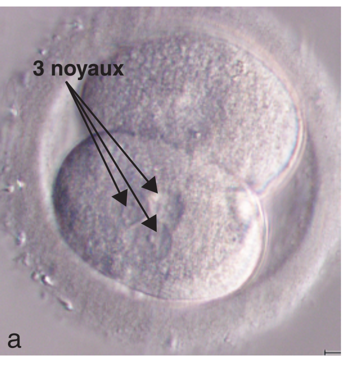
Nombre de blastomères : le nombre de cellules embryonnaires observé à des intervalles de temps prédéfinis permet de savoir si l'embryon à une cinétique de division normale. L'embryon doit, idéalement, avoir deux cellules à 26–29 h post-insémination, puis quatre cellules à 44–45 h et huit cellules à 68–69 h. La cinétique de division des embryons est un indicateur important de leur viabilité : un développement trop lent ou trop rapide à J2 a un impact négatif sur le taux de grossesses [15].

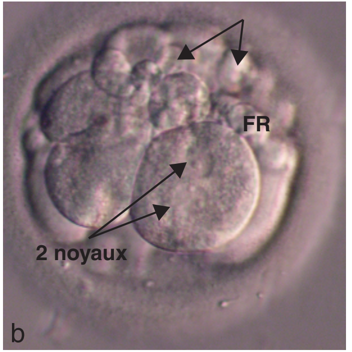
Taille des blastomères : deux cellules sœurs d'un embryon sont considérées de taille inégale si leur différence de taille est de plus d'un tiers. Les embryons atypiques, ayant des cellules de taille inégale, ont un taux d'implantation faible car ils sont souvent aneuploïdes. Aux stades deux, quatre ou huit blastomères les embryons doivent avoir des cellules de taille identique (figures 25.2 et 25.3) [3].

Taux de fragmentation : un fragment embryonnaire est une structure cytoplasmique sans noyau, dont le diamètre est inférieur à 45 µm à J2 et inférieur à 40 µm à J3. La fragmentation nécessite plusieurs lectures de l'embryon, car certains embryons résorbent leurs fragments alors que d'autres les accumulent au cours de leurs divisions successives. Un taux de fragmentation élevé (> 35 %) est de mauvais pronostic et est fortement corrélé à une augmentation d'anomalies chromosomiques (voir figure 25.3) [3].

Statut nucléaire des blastomères : la présence de plus d'un noyau dans au moins un blastomère suffit à dire que l'embryon est multinucléé. La multinucléation est associée à un très faible taux d'implantation des embryons. L'analyse génétique des cellules de taille inégale, provenant d'une même division, est corrélée à la multinucléation des cellules et montre un fort taux d'anomalies chromosomiques (voir figure 25.3) [3].

La classification assez simple, décrite ci-après et discutée au sein de l'association des biologistes des laboratoires d'étude de la fécondation et de la conservation de l'œuf (BLEFCO) est une classification à trois chiffres NXY [5]. Le premier chiffre N correspond au nombre de blastomères, le deuxième chiffre X est soit 1 = typique ou 2 = atypique (division anormale), le troisième chiffre Y correspond au pourcentage de fragments (1 = moins de 10 %, 2 = 10 à 50 %, 3 = plus de 50 %). Ainsi un embryon à J2 avec quatre blastomères de taille égale et pas de fragments sera typique et noté 411 (voir figure 25.2) et un embryon à J2 avec trois cellules de taille égale et 20 % de fragments sera atypique et noté 322. La morphologie des embryons précoces à J2 et à J3 est un des facteurs les plus prédictifs de la survenue d'une grossesse et de la naissance d'un enfant [11, 14, 16]. Le « top embryon » définit comme l'embryon précoce à bon potentiel implantatoire doit être typique et avoir :





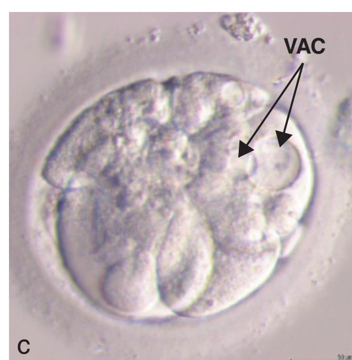


Figure 25.3 Anomalies embryonnaires.
a. Embryon à deux cellules (211) avec trois noyaux dans un blastomère.
b. Embryon (622) avec des anomalies associées : blastomères de taille inégale, fragments (FR) et un blastomère binucléé.
c. Embryon (322) avec vacuoles cytoplasmiques (Vac) et fragmentation cellulaire.

- quatre à cinq cellules à J2, 44 à 45 h post-insémination;
- un minimum de sept cellules à J3, 68 à 69 h post-insémination;
- moins de 20 % de fragments et pas de blastomères multinucléés [17].

Il est généralement préférable d'utiliser au moins deux paramètres observationnels successifs pour choisir le ou les embryons à transférer. Le clivage précoce et le nombre de cellules à J2 sont les paramètres les plus prédictifs de l'obtention d'un blastocyste de bonne morphologie à J5 [18]. Il est possible aussi de donner 1 point à l'embryon selon quatre critères (divisé = 1; quatre cellules = 1; pas de cellules irrégulières = 1; < 20 % de fragments = 1) et il a été montré que le score embryonnaire (somme des ponts attribués) est corrélé au taux de grossesses [15].

Classification des morulas (J4) et des blastocystes (J5–J6)

La culture des embryons peut être prolongée jusqu'aux jours 5 et 6. À J4, soit 92 à 94 h post-insémination, on observe des embryons n'ayant plus de limites cellulaires sauf en périphérie, appelés morulas compactées. Si la compaction est incomplète et concerne moins de la moitié des blastomères, le développement ultérieur sera compromis [3].

La caractérisation du blastocyste (voir figure 25.2) obtenu dès le 5e jour de développement, 116 à 118 h post-insémination, est plus complexe, néanmoins un score alphanumérique a été défini par Gardner *et al.* [19].

Taille du blastocèle. Le stade de développement du blastocyste est noté de 1 à 6 en fonction de la taille de son blastocèle :

- B1 : le blastocèle occupe moins de la moitié du volume de l'embryon;
- B2 : le blastocèle occupe au moins la moitié du volume de l'embryon;
- B3 : le blastocèle occupe tout le volume de l'embryon;
- B4 : blastocyste expansé dont le volume excède celui de l'embryon normal et la zone pellucide est amincie;
- B5 : blastocyste en cours d'éclosion;
- B6 : blastocyste éclos, sorti de sa zone pellucide.

Évaluation du bouton embryonnaire : celle-ci se fait à partir du stade B3. On note :

- A, s'il est compact et composé de nombreuses cellules;
- B, s'il est moins compact avec moins de cellules;
- C, s'il est peu ou pas visible avec peu de cellules.

Structure du trophectoderme, on note :

- A, s'il y a beaucoup de cellules formant un épithélium festonné;
- B, s'il y a quelques cellules formant un épithélium irrégulier;
- C, s'il y a très peu de cellules formant un épithélium plutôt lisse.

Les blastocystes de score supérieur ou égal à B3AA sont ceux qui donnent le meilleur taux de grossesses et d'implantation (voir figure 25.2) [19, 20].

Avantages et limites des classifications

Les observations quotidiennes des embryons permettent, en associant plusieurs critères, de repérer des embryons au développement harmonieux (voir figure 25.2) dont le transfert est associé au meilleur taux de grossesses. Avec la vitrification embryonnaire, le transfert électif d'un « top embryon » frais et les transferts des embryons surnuméraires de bonne qualité, congelés, donnent de bons résultats [21]. Cependant les analyses embryonnaires ponctuelles imposent de sortir les embryons de l'incubateur. Ces manipulations répétées peuvent altérer la viabilité des embryons. De nouveaux incubateurs équipés de caméras apparaissent sur le marché. Les embryons sont filmés tout au long de leur culture, ce qui permet une analyse précise de leur cinétique de division et l'observation d'anomalies du développement, sans perturber la culture embryonnaire. Il est encore trop tôt pour savoir si de nouveaux critères de développement, plus pertinents, pourront améliorer le choix de l'embryon au meilleur potentiel implantatoire [22].

Références

[1] Boyer P. La mémoire de l'image. In : Assistance médicale à la procréation. Rueil-Malmaison : éditions RanD ; 2006.
[2] Veeck LL, Zaninovic N. An atlas of human blastocysts. New York : The Parthenon Publishing Group ; 2003.
[3] Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment : proceedings of an expert meeting. Hum Reprod 2011 ; 26 : 1270–83.
[4] Racowsky C, Vernon M, Ball GD, et al. Standardization of grading embryo morphology. Fertil Steril 2010 ; 94 : 1152–3.
[5] Boyer P, Boyer M. Évaluation non invasive de l'embryon : morphologie embryonnaire préimplantatoire. Gynecol Obstet Fertil 2009 ; 37 : 908–16.
[6] Tesarik J, Greco E. The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology. Hum Reprod 1999 ; 14 : 1318–23.
[7] Scott L, Alvero R, Leondires M, Miller B. The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blastocyst development and implantation. Hum Reprod 2000 ; 15 : 2394–403.
[8] Nicoli A, Palomba S, Capodanno F, et al. Pronuclear morphology evaluation for fresh in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection(ICSI) cycles : a systematic review. J Ovarian Res 2013 ; 6 : 64.
[9] Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, et al. Oocyte euploidy, pronuclear zygote morphology and embryo chromosomal complement. Hum Reprod 2007 ; 22 : 241–9.
[10] Shoukir Y, Campana A, Farley T, Sakkas D. Early cleavage of in vitro fertilized human embryos to the 2-cell stage : a novel indicator of embryo quality and viability. Hum Reprod 1997 ; 12 : 1531–6.
[11] Lundin K, Bergh C, Hardarson T. Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. Hum Reprod 2001 ; 16 : 2652–7.
[12] Terriou P, Giorgetti C, Hans E, et al. Relationship between even early cleavage and day 2 embryo score and assessment of their predictive value for pregnancy. Reprod Biomed Online 2007 ; 14 : 294–9.
[13] Dumont M. Qualité et sélection des embryons. J Gynecol Obstet Biol Repod (Paris) 2008 ; 37 : S9–13.
[14] Scott L, Finn A, O'Laery T, McLellan S, Hill J. Morphologic parameters of early cleavage-stage embryos that correlate with fetal development and delivery : prospective and applied data for increased pregnancy rates. Hum Reprod 2007 ; 22 : 230–40.
[15] Giorgetti C, Terriou P, Auquier P, et al. Embryo score to predict implantation after in-vitro fertilization : based on 957 single embryo transfers. Hum Reprod 1995 ; 10 : 2427–31.
[16] Vernon M, Stern JE, Ball GD, et al. Utility of the national embryo morphology data collection by the society for Assisted Reproductive Technologies (SART) : correlation between day-3 morphology grade and live-birth outcome. Fertil Steril 2011 ; 95 : 2761–3.
[17] Van Royen E, Mangelschots K, de Neubourg D, et al. Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. Hum Reprod 1999 ; 14 : 2345–9.
[18] Guerif F, Le Gouge A, Giraudeau B, et al. Limited value of morphological assessment at days 1 and 2 to predict blastocyst development potential : a prospective study based on 4042 embryos. Hum Reprod 2007 ; 22 : 1973–81.
[19] Gardner DK, Lane M, Stevens J, et al. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome towards a single blastocyst transfer. Fertil Steril 2000 ; 73 : 1155–8.

[20] Gardner DK, Phil D, Surrey E, et al. Single blastocyst transfer : a prospective randomized trial. Fertil Steril 2004; 81 : 551–5.
[21] Glujovsky D, Blake D, Farquhar C, Bardach A. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. Cochrane Database Syst Rev 2012; 7.
[22] Kaser DJ, Racowsky C. Clinical outcomes following selection of human preimplantation embryos with time-lapse monitoring : a systematic review. Hum Reprod Update 2014; 20 : 617–31.

Congélation des ovocytes et des embryons

Chapitre 26

P. Boyer, D. Montjean, C. Siraudin, M. Gervoise-Boyer

Les progrès de la cryobiologie ont récemment bouleversé les possibilités de prise en charge des couples en assistance médicale à la procréation (AMP).

Dès 1983, Trounson obtient et publie la première grossesse chez la femme après transfert d'embryon congelé [1], il pose immédiatement les bases des réflexions éthiques irrémédiablement associées à la congélation embryonnaire chez l'Homme. L'arrêt du temps devient possible et est à l'origine des débats les plus animés de l'histoire de l'AMP. Dix ans plus tard, alors que la congélation embryonnaire s'impose, la loi de bioéthique de 1994 naît en France avec l'espoir d'une congélation ovocytaire. Faute de maîtrise technique de la congélation ovocytaire, pendant les décennies qui ont suivi, le schéma thérapeutique s'organise sur le transfert embryonnaire frais et la congélation des embryons qualifiés de surnuméraires. Il faut attendre la loi de juillet 2011 pour que les professionnels se voient accorder en France l'autorisation de congeler l'ovocyte et par là même disposer enfin d'une vraie possibilité de limiter les stocks d'embryons congelés dont on connaît les difficultés de gestion sur le long terme [2]. Après avoir connu l'aire de l'automatisation en cryobiologie, le temps des actes du biologiste et de la prise en charge médicale adaptée au cas par cas font leur grand retour. L'amélioration des méthodes de congélation fait faire un bond qualitatif majeur en termes de résultats [3, 4]. Les pratiques devront être évaluées sur le cumul des résultats obtenus après tous les types de transferts pour un même cycle de stimulation ovarienne : embryons frais, embryons congelés et/ou obtenus après réchauffement d'ovocytes congelés.

Pour autant, l'histoire de la congélation ultrarapide ou vitrification n'est pas aussi récente que ne le laisse supposer la médiatisation actuelle.

Bases techniques

Le domaine de discussion le plus fréquemment abordé en cryobiologie concerne les vitesses de refroidissement qui assurent à la congélation son efficacité. La transition physique de l'état liquide à l'état solide conditionne le succès du processus. La frontière entre les deux états est fragile et potentiellement soumise à une cristallisation involontaire, au moins autant au refroidissement qu'au réchauffement. Les conditions du changement de phase seront atteintes différemment selon la nature et les concentrations des cryoprotecteurs utilisés en congélation lente ou ultrarapide [5, 6]. La congélation lente recherche une cristallisation capable de respecter l'intégrité cellulaire. La vitrification s'affranchit de la cristallisation.

En congélation lente, le premier germe *(seeding)* entraîne la cristallisation extracellulaire. La vague de cristallisation induite se propage, provoque une augmentation rapide de concentration des solutés. En raison du nouvel équilibre osmotique imposé, la cellule se déshydrate dans, *in fine*, les mêmes conditions intracellulaires que celles observées lors d'une vitrification. Une congélation lente réussie conduit aux conditions de la vitrification. L'automatisation possible de la descente thermique et la bonne survie embryonnaire ont donné à la congélation lente la place qu'on lui connaît depuis 30 ans.

Le développement de la méthode de vitrification a nécessité des mises au point qui ont retardé son application mais le bénéfice se mesure en qualité de survie des cellules vitrifiées et réchauffées. Deux approches sont proposées : le système ouvert avec contact direct entre l'objet à refroidir et l'azote liquide et le système fermé sans contact direct. Les vitesses de refroidissement atteignent plusieurs milliers de degrés par minute en système ouvert. En système fermé, il existe une barrière thermo-isolante qui augmente l'inertie thermique, les vitesses de refroidissement sont alors divisées par 10, ce qui convient parfaitement aux embryons mais n'est pas suffisamment performant pour l'ovocyte [7].

Les deux méthodes utilisent le réchauffement ultrarapide dont l'efficacité a été adoptée en raison de sa faisabilité. Il doit associer une vitesse instantanée de retour à la température ambiante et une élimination des cryoprotecteurs avant de rétablir un fonctionnement cellulaire superposable à celui existant avant congélation. Cette étape est ménagée par l'utilisation de sucrose à forte concentration pour contrecarrer l'effet osmotique de sortie des cryoprotecteurs qui fragilise les membranes. C'est ce stade qui conditionne la bonne survie des cellules.

En 1999, Kuleshova et Trounson [8] publient la première naissance après vitrification et réchauffement ovocytaire. Ils relancent l'intérêt pour cette méthode. Une technique de routine pour l'ovocyte est proposée par Kuwayama en 2005 [9], annonçant le début du déploiement de cette technique.

Sécurité de l'utilisation de l'azote liquide

L'utilisation de l'azote sous forme de gaz liquéfié permet de travailler en températures négatives avec des vitesses de refroidissement inégalées par d'autres dispositifs. Pour liquéfier un gaz, il faut au préalable le comprimer à une pression de 200 bars, incompatible avec la survie de tout organisme vivant. Dans les contraintes de production industrielle, les métaux lourds, l'eau et le sulfure d'hydrogène, notamment, sont éliminés afin de ne pas corroder les installations. Ces qualités de pureté obtenues à la fabrication expliquent la large utilisation de l'azote liquide dans l'industrie alimentaire qui n'a connu aucune crise sanitaire en relation avec son utilisation. Il n'en reste pas moins que des contaminations peuvent être apportées lors de la distribution ou de l'utilisation du gaz liquide dans les laboratoires [10–12]. Afin d'éviter un risque de contamination potentiel, certains auteurs proposent de traiter l'azote avant utilisation par les rayons ultraviolets (UV) ou de le filtrer avec un dispositif en céramique de porosité 0,1 micron. Il est fortement recommandé de nettoyer les containers de stockage y compris lors de l'utilisation de systèmes fermés qui ne mettent pas à l'abri de captures de micro-organismes lors des manipulations. Soulignons qu'en AMP, aucune contamination n'a été rapportée à l'exception de conditions expérimentales d'ajout microbien [7, 13].

L'utilisation de l'un ou l'autre des systèmes est autorisée dans tous les pays y compris la France, cependant, aujourd'hui, le système ouvert est recommandé en cas de vitrification ovocytaire aussi bien par les biologistes ayant participé à sa mise au point que par certaines instances comme l'*American Society for Reproductive Medicine* (ASRM) [13, 14].

Expérience

L'évaluation des résultats est une étape obligatoire à la mise en place d'une nouvelle technique au sein d'une structure. L'expérience internationale permet de faire émerger des avancées pour autant que nous soyons capables de reproductibilité. Il appartient, en France, à l'Agence de la biomédecine de faire cette évaluation. Cela ne dédouane pas chaque centre d'une évaluation interne. L'état des pratiques en France pour la vitrification embryonnaire a été publié en 2013 [15]. La technique de vitrification ovocytaire peut être validée en menant une étude comparative entre les ovocytes frais et les ovocytes vitrifiés issus d'une même cohorte de stimulation. Si la cohorte d'ovocytes en métaphase II est égale ou supérieure à 12, les chances initiales ne sont que peu diminuées. Les taux de grossesses par ponction après cumul de tous les transferts sont préservés : embryon frais unique, embryons congelés éventuels

et embryons issus d'ovocytes vitrifiés. Notre première expérience nous a permis de valider l'équivalence de résultats entre les ovocytes frais et les ovocytes vitrifiés et le déploiement de la méthode a entraîné une diminution notable de la congélation embryonnaire au profit de l'autoconservation de gamètes féminins [16].

La maîtrise par une majorité d'équipes dans le monde permet à la vitrification embryonnaire de relancer le *freeze all* déjà proposé lors de la mise en pratique de la congélation lente. Cette stratégie repose sur l'augmentation attendue de l'implantation par une meilleure adaptation de la qualité de l'endomètre dans un contexte libéré des anomalies constatées de l'endomètre du cycle stimulé. L'avance endométriale liée à l'hyperœstrogénie et la sécrétion prématurée de progestérone, ainsi que les risques de complications de l'hyperstimulation justifient de dissocier le recueil ovocytaire de l'implantation embryonnaire. La congélation du gamète féminin permet également de dissocier la fécondation et le transfert [17, 18].

Les perspectives futures laissent espérer un bénéfice sur l'amélioration de la qualité de la maturation ovocytaire au cours de la stimulation. En effet, certaines méthodes de stimulation aujourd'hui abandonnées pour des raisons de trop faible recrutement pourraient être remises à l'ordre du jour en utilisant une stratégie de cumul ovocytaire au bénéfice de femmes jeunes en insuffisance ovarienne précoce [19].

Résultats appliqués aux embryons (figure 26.1)

Le bénéfice de la vitrification embryonnaire comparée à la congélation lente est démontré

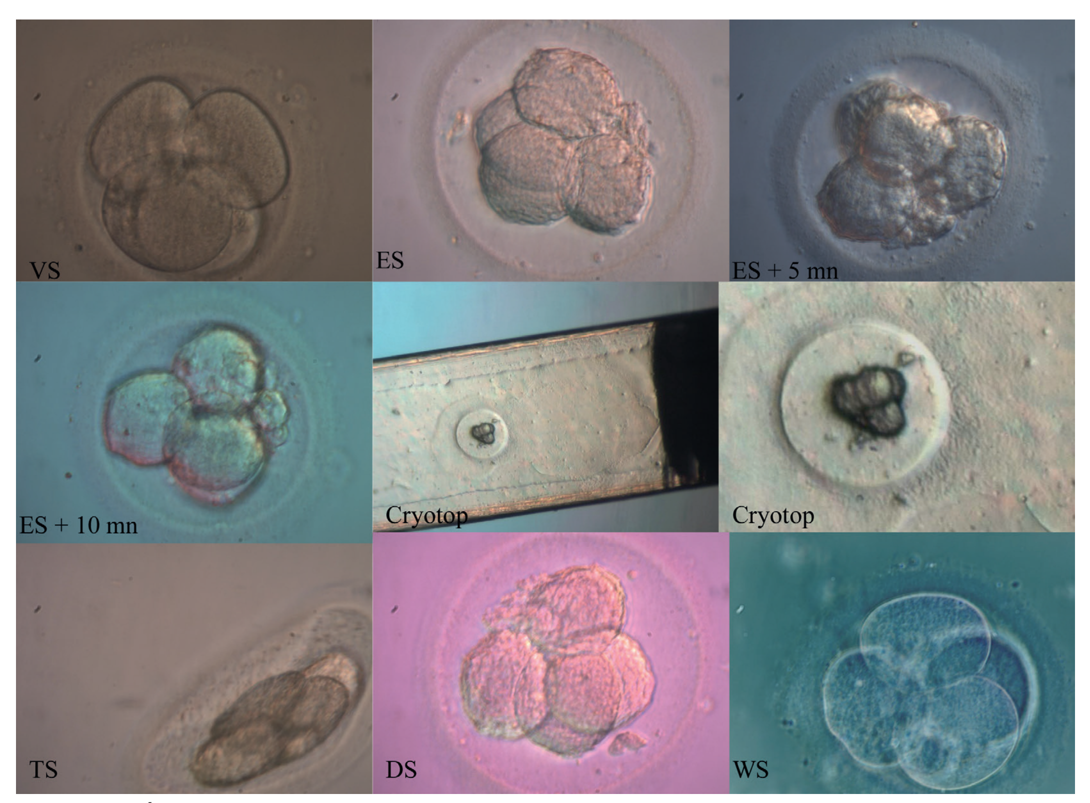


Figure 26.1 Évolution d'un embryon au cours des étapes de vitrification, dépôt sur le support et réchauffement.
BS : *basic solution*; Cryotop : dispositif médical de support; DS : *diluent solution*; ES : *equilibration solution*; TS : *thawing solution*; VS : *vitrification solution*; WS; *washing solution.*

par de nombreuses études à tous les stades, du zygote au blastocyste en passant par le stade de clivage précoce. Le tableau 26.1 présente les résultats des biologistes des laboratoires d'étude de la fécondation et de la conservation de l'œuf (BLEFCO) colligés par Hesters [15]. Le bénéfice le plus marqué concerne le stade J5, blastocyste, comme le montrent les excellents résultats de Mukaida [3]. Dans notre expérience, le taux de grossesses débutantes par cycle de décongélation d'embryons cultivés jusqu'à J5, est passé de 15 % en congélation lente à 36,8 % en vitrification ($p < 0,001$, données internes non publiées). Que les embryons soient au stade de morula compactée (MC) ou qu'ils aient déjà atteint celui de blastocyste expansé (B5), le bénéfice est indépendant de la cinétique au cours de la culture (figure 26.2). Ces résultats relancent le débat sur la stratégie de la congélation de tous les embryons (ou ovocytes), ***freeze all***, particulièrement pour les femmes qui sont à risque de déséquilibres hydro-électrolytiques engendrés par l'hyperstimulation et majorés lors de l'implantation embryonnaire avec la sécrétion de β-hCG par le trophoblaste. La supériorité de l'implantation sur les cycles en dehors de toute stimulation ovarienne est aussi évoquée et alimente la controverse [20]. Le *freeze all* est proposé pour toute la cohorte embryonnaire ou ovocytaire, sans que le bénéfice ne soit véritablement démontré, en dehors des situations de remise en cause du transfert pour risque maternel ou défaut d'implantation prévisible et documenté.

Résultats appliqués aux ovocytes (figure 26.3)

Rienzi [21] montre des résultats comparables entre l'utilisation d'ovocytes frais et celle d'ovocytes vitrifiés en AMP. Dans le cadre du don d'ovocytes, Cobo a conduit un essai de non-infériorité [4, 22]. La supériorité de la vitrification sur la congélation lente est apportée par l'étude de Smith [23] et confirmée par le registre italien [24]. Enfin, l'ASRM recommande l'utilisation de la vitrification ovocytaire en préservation de la fertilité féminine sur des preuves de niveau A apportée par une démarche en *evidence-based medicine* [14].

Le plus grand bénéfice de la vitrification est sans aucun doute la possibilité de conserver le gamète féminin. Cette conservation remet en question la gestion de la prise en charge dans

Tableau 26.1 Résultats de la vitrification embryonnaire comparée à la congélation lente en France en 2012*.

Vitrification/lent	Zygotes 5 centres	J2/J3 21 centres	Blastocystes 29 centres
Nombre d'embryons réchauffés	213/309	1565/12 532	2313/3488
Pourcentage d'embryons intacts	94 %/86 %	80 %/ND	77 %/ND
Nombre d'embryons (%)	126/216	1373/8836 88 %/70 %	1885/2463 81 %/71 %
Nombre de transferts	75/99	870/5688	1462/1849
Nombre moyen d'embryons transférés	1,68/2,18	1,58/1,55	1,29/1,29
Nombre de grossesses cliniques	21/15	215/1072	396/345
Taux de grossesses cliniques/Transfert	28 %/15,1 % $P < 0,05$	24,7 %/18,8 % $P < 0,001$	27,1 %/18,7 % $P < 0,001$

* Adapté de Hesters L. Enquête auprès de 29 centres ayant rapporté leurs résultats.
ND : non disponible.

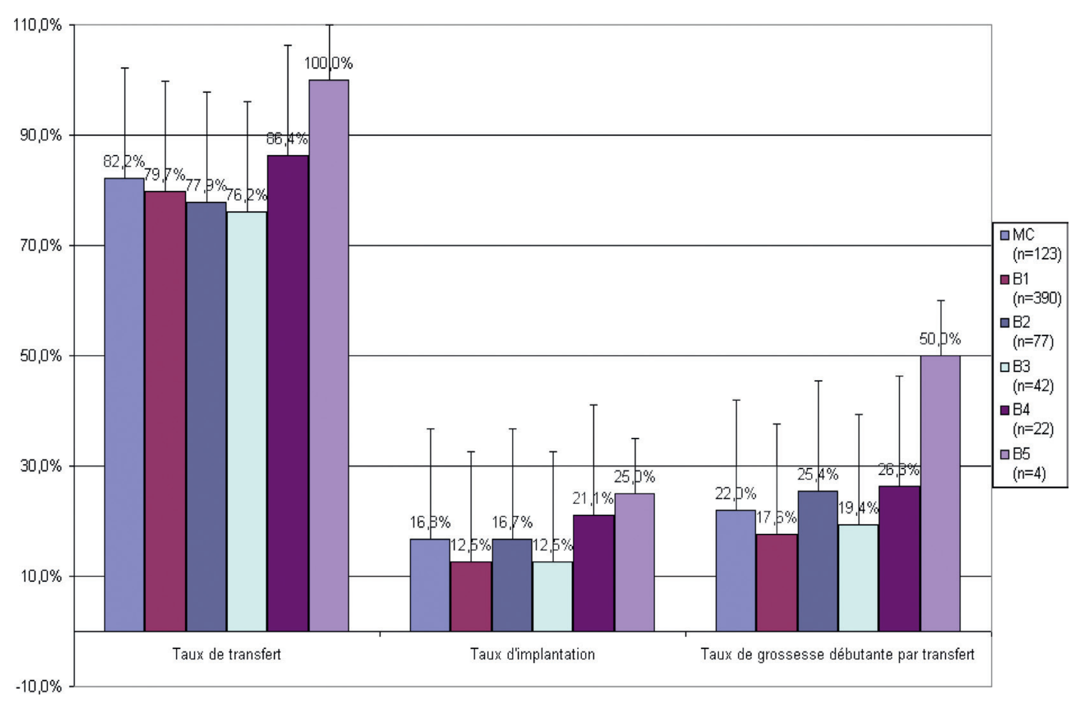


Figure 26.2 Survie embryonnaire après vitrification et résultats en fonction du stade atteint à J5.
Données non publiées.

tous les secteurs de l'AMP : infertilité, don et préservation de la fertilité. Les équipes françaises qui pratiquent la vitrification ovocytaire dans le cadre de la prise en charge en AMP intraconjugale sont encore peu nombreuses bien que l'équivalence de résultats entre ovocytes frais ou vitrifiés soit récemment démontrée, y compris dans le cadre du *freeze all* [25]. Les données publiées en 2013 (figure 26.4), lors de la validation de la technique de vitrification ovocytaire, étaient particulièrement encourageantes puisqu'elles montraient un taux de survie des ovocytes de 80,5 % et des taux de fécondation et de grossesses par transfert au moins égaux à ceux obtenus avec des ovocytes frais issus de la même cohorte. Pour comparaison, dans le don d'ovocyte en Espagne, le taux de survie dépasse 90 % [16, 22, 26].

Une étude prospective sur le développement embryonnaire jusqu'à J5 de 451 zygotes obtenus après réchauffement et micro-injection d'ovocytes vitrifiés comparée à 520 zygotes obtenus après micro-injection d'ovocytes frais a montré que les embryons issus de la même cohorte ovocytaire présentaient la même cinétique de développement. La maîtrise de la technique permet d'améliorer les taux de survie des ovocytes réchauffés à 86 % [27]. Parmi un groupe de 85 femmes ayant pu bénéficier d'une vitrification, qui n'ont plus d'ovocyte ou d'embryon en cours de conservation, on dénombre 13 naissances vivantes après transfert frais ou après transfert d'embryon congelé et 15 naissances après réchauffement d'ovocyte, soit 33 % de naissances vivantes par ponction. Après 3 ans d'activité, le nombre d'enfants nés d'ovocytes vitrifié s'élève à 45 (données non publiées).

L'ovocyte immature peut également être vitrifié, mais les difficultés liées à sa maturation *in vitro* restent encore non résolues.

Conclusions

La cryobiologie est aujourd'hui un versant à part entière de la biologie de la reproduction, elle vient compléter l'arsenal technique des centres d'AMP, alors qu'hier elle n'était qu'une « solution » de sauvetage des embryons « surnuméraires ». Comme un puzzle dont les pièces

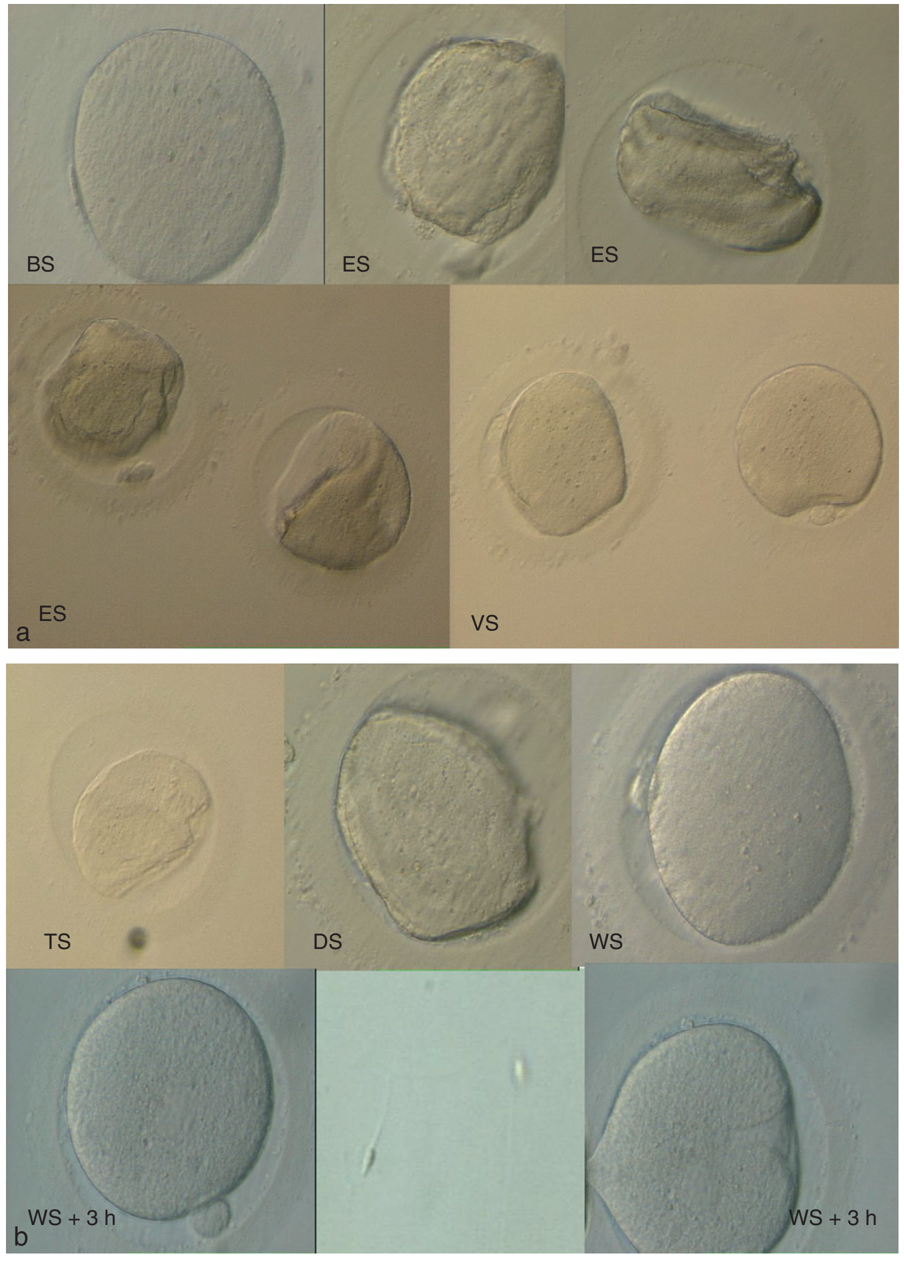


Figure 26.3 Vitrification de l'ovocyte (a) et réchauffement de l'ovocyte vitrifié (b).
a. L'ovocyte est déshydraté et reprend son volume initial avant refroidissement ultrarapide. BS : *basic solution*; ES : *equilibration solution*; VS : *vitrification solution*.
b. L'ovocyte réchauffé reprend son aspect initial avant ICSI. TS : *thawing solution*; DS : *diluent solution*; WS : *washing solution*.

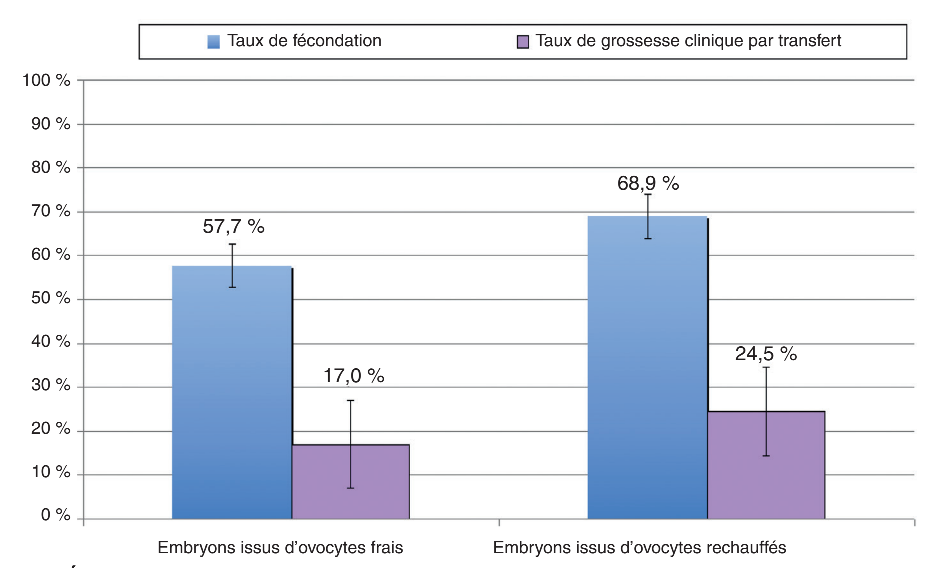


Figure 26.4 Évaluation de la vitrification ovocytaire.
Source : Boyer P, et al. *Oocyte vitrification in an ART laboratory.* Gynecol Obstet Fertil *2013 ; 41 : 551-3.*

n'auraient pas été au complet, la congélation prend aujourd'hui ses lettres de noblesse grâce à la vitrification. Elle devient un catalyseur du développement de nouvelles pratiques de l'AMP : renouveau du *freeze all*, développement de la maturation *in vitro* et surtout autoconservation du gamète féminin [20, 26].

Les axes de recherche peuvent s'orienter sur la diminution du nombre d'embryons produits au profit d'une meilleure qualité embryonnaire avec l'objectif affiché de privilégier le transfert frais unique et la diminution du nombre d'embryons conservés.

La congélation du gamète féminin représente l'avancée la plus marquante de ce début de siècle en biologie de la reproduction, tout comme l'a été la micro-injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde au cours de la décennie précédente. Il reste à l'intégrer à l'offre de soin de tous les centres d'AMP.

Références

[1] Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. Nature 1983 ; 305 : 707–9.
[2] Loi nº 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique : article L. 2141-1.
[3] Mukaida T, Oka C. Vitrification of oocytes, embryos and blastocysts. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2012 ; 26 : 789–803.
[4] Cobo A, Diaz C. Clinical application of oocyte vitrification : a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Fertil Steril 2011 ; 96 : 277–85.
[5] Fahy G, MacFarlane D, Angell C, Meyriman H. Vitrification as an approach to cryopreservation. Cryobiology 1984 ; 21 : 407.
[6] Rall W, Fahy G. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196°c by vitrification. Nature 1985 ; 313 : 573.
[7] Vajta G, Rienzi L, Ubaldi F. Open versus closed systems for vitrification of human oocytes and embryos. Reprod Biomed Online 2015 ; 30 : 325–33.
[8] Kuleshova L, Gianaroli L, Magli C, et al. Birth following vitrification of a small number of human oocytes : case report. Hum Reprod 1999 ; 14 : 3077–9.
[9] Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. Reprod Biomed Online 2005; 11 : 300–8.
[10] Germain JP, Girardon P. Filtration stérilisante de l'azote liquide. Ind Alim Agr 1996 ; 113 : 745–8.
[11] Bielanski A, Bergeron H, Lau P, Devenish J. Microbial contamination of embryos and semen during long term banking in liquid nitrogen. Cryobiology 2003 ; 46 : 146–52.
[12] Morris G. The origin, ultrastructure, and microbiology of the sediment accumulating in liquid nitrogen storage vessels. Cryobiology 2005 ; 50 : 231–8.
[13] Cobo A, Beliver J, de los Santos M, Remohi J. Viral screening of spent culture media and liquid nitrogen samples of oocytes and embryos from hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virus chronically infected women undergoing in vitro fertilisation cycles. Fertil Steril 2012 ; 97 : 74–8.

[14] Practice Committees of American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. Mature oocyte cryopreservation : a guideline. Fertil Steril 2013 ; 99 : 37–43.
[15] Hesters L, Achour-Frydman N, Mandelbaum J, Levy R. Vitrification embryonnaire : état des pratiques en France par les BLEFCO. Gynecol Obstet Fertil 2013 ; 41 : 554–7.
[16] Boyer P, Montjean D, Tourame P, Gervoise-Boyer M. Validation de la technique de vitrification ovocytaire. Ref Gynecol Obstet 2014 ; 16 : 120–1.
[17] Testart J, Lassalle B, Forman R, et al. Factors influencing the success rate of human embryo freezing in an in vitro fertilization and embryo transfer program. Fertil Steril 1987 ; 48 : 107–12.
[18] Venetis C, Kolibianakis E, Bosdou J, Tarlazis B. Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF : a systematic review and meta-analysis of aver 60 000 cycles. Hum Reprod Update 2013 ; 19 : 433–57.
[19] Cobo A, Garrido N, Crespo J, et al. Accumulation of oocytes : a new strategy for managing low-responder patients. Reprod Biomed Online 2012 ; 2 : 424–32.
[20] Roque M, Lattes K, Serra S, et al. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles : a systematic review and meta-analysis. Fertil Steril 2013 ; 99 : 156–62.
[21] Rienzi L, Romano S, Albricci L, et al. Embryo development of fresh 'versus' vitrified metaphase II oocytes after ICSI : a prospective randomized sibling-oocyte study. Hum Reprod 2010 ; 25 : 66–73.
[22] Cobo A, Kuwayama M, Perez S, et al. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. Fertil Steril 2008 ; 89 : 1657–64.
[23] Smith G, Serafini P, Fiovaranti J, et al. Prospective randomized comparison of human oocyte cryopreservation with slow-rate freezing or vitrification. Fertil Steril 2010 ; 94 : 2088–95.
[24] Setti P, Porcu E, Patrizio P, et al. Human oocyte cryopreservation with slow freezing versus vitrification. Results from the National Italian Registry Data 2007-2011. Fertil Steril 2014 ; 102 : 90–5.
[25] Herrero-Grassa L, Marin S, Barragan M, et al. Oocyte versus embryo vitrification for delayed embryo transfer : an observational study. Reprod Biomed Online 2014 ; 29 : 567–72.
[26] Boyer P, Montjean D, Tourame P, Gervoise-Boyer M. Apport de la vitrification ovocytaire dans un laboratoire d'AMP. Vitrification des ovocytes : l'âge mûr. Gynecol Obstet Fertil 2013 ; 41 : 551–3.
[27] Montjean D, Gervoise-Boyer M, Geoffroy-Siraudin C, et al. Morphokinetics analysis of embryos derived from vitrified/warmed oocytes. JARG 2015 ; [accepté pour publication].

Le transfert : us et coutume

Chapitre 27

S. Fay, S. Peyrelevade, P. Oger

Le transfert embryonnaire (TE) est une étape clé de la fécondation *in vitro* (FIV), chargé d'émotions et d'espoir pour le couple qui a souvent vécu un parcours difficile avant cette phase ultime. Il est vrai que les avancées constantes en biologie de la reproduction et l'arrivée de nouvelles molécules ont souvent minimisé l'importance du TE. Pourtant, il est capital d'optimiser les conditions du TE afin de mettre le couple en confiance et d'augmenter les taux d'implantation. En 2012, le taux de grossesses (TG) national par TE était de 26,3 % et le taux d'accouchements de 19,5 % (FIVNAT 2012).

Bilan à réaliser avant le transfert embryonnaire

Toute patiente qui va démarrer un protocole de stimulation en vue d'une FIV doit bénéficier d'un bilan précis « pré-transfert » afin de connaître son anatomie utérine :

- **hystérosalpingographie :** elle permet le dépistage d'une éventuelle malformation utérine, d'un processus intracavitaire ou d'un hydrosalpinx. L'impact néfaste d'un hydrosalpinx sur le taux d'implantation est reconnu avec une diminution de 50 % des TG en FIV. Une prise en charge chirurgicale (salpingectomie) est dans ce cas à envisager avant la FIV [1] ;
- **échographie pelvienne :** elle évalue l'aspect de l'endomètre et du myomètre, l'hystérométrie échographique (distance orifice externe–orifice interne et orifice interne–fond utérin) et l'angulation du col sur le corps utérin [2] ;
- **hystéroscopie diagnostique :** c'est l'examen le plus sensible et spécifique pour la détection d'anomalies en visualisant directement la cavité utérine et le canal cervical et en dépistant 33 % de lésions utérines non vues à l'échographie (sténose cervicale, synéchies, polype, myome sous-muqueux, endométrite). Elle permet aussi de repérer le trajet cervico-isthmique pour guider le TE ultérieur. Elle est réalisée en systématique par de nombreuses équipes, sur points d'appel radiologiques pour d'autres. Certaines études ont même montré l'impact positif sur le TG chez les patientes ayant bénéficié d'une hystéroscopie au cours du cycle précédant le TE, par rapport à celles qui n'en ont pas eu, même chez celles où aucune anomalie n'a été détectée. Cette amélioration pourrait s'expliquer par la dilatation du canal cervical facilitant ensuite le TE à venir et par « l'inflammation » secondaire au passage de l'hystéroscope [3]. L'hystéroscopie est souvent couplée à une hystérométrie, information utile en vue d'un TE, et à une biopsie d'endomètre si nécessaire ;
- **hystérosonographie :** c'est un bon examen pour évaluer la cavité utérine, encore peu pratiqué en routine. Il s'agit d'une échographie faite après injection intracavitaire de sérum physiologique ;
- **test de transfert à l'aide d'un cathéter d'essai** afin d'avoir le temps de parer à une difficulté. On évalue le passage des orifices interne et externe du col, une éventuelle sténose cervicale, la trajectoire et la profondeur de la cavité utérine. Ce geste peut être réalisé à distance du TE ou, plus fréquemment, juste avant.

Choix du nombre d'embryons à transférer

Les données de FIVNAT 2012 rapportent un nombre moyen d'embryons frais transférés de 1,8, chiffre en baisse depuis quelques années. Le nombre d'embryons à transférer (un, deux, voire trois) dépend de l'âge de la patiente, de ses antécédents, du rang de tentative de FIV, de la volonté du couple et de la qualité des embryons. Une discussion à ce sujet doit avoir lieu en consultation et sera réactualisée le jour du transfert en fonction du nombre d'embryons obtenus et de leur qualité.

Dans la plupart des cas, le choix entre plusieurs embryons à transférer est possible. Parfois, un seul embryon est disponible à cause d'une réponse ovarienne faible. Il est donc difficile de pouvoir comparer les résultats. Si la plupart des centres transfèrent deux embryons, la politique du transfert unique (*elective single embryo transfer* ou eSET) est de plus en plus répandue. Le but est de proposer au couple un eSET afin de lutter contre les grossesses gémellaires et leurs complications. La difficulté reste cependant de maintenir des taux de grossesses satisfaisants. Il est donc important de bien sélectionner les candidates : âge inférieur à 35 ans, première ou deuxième tentative, bonne réserve ovarienne, nombre d'embryons de belle qualité permettant une congélation embryonnaire. Différents travaux ont étudié les TG après eSET d'un embryon de 2 jours (J2) ou d'un blastocyste (J5). Les résultats semblent être en faveur du transfert d'un blastocyste [4], mais les TG sont finalement similaires en comparant les taux cumulés après eSET et transfert des embryons congelés [5]. Dans des cas particuliers, des raisons médicales imposent le transfert d'un seul embryon (*single embryo transfer* ou SET), comme par exemple une béance cervico-isthmique, une malformation utérine, un antécédent de fausse couche tardive. Tout confondu, le taux de SET était de près de 40 % en France en 2012 (tableau 27.1).

Il est à noter également la possibilité de réaliser un double TE, c'est-à-dire transférer deux embryons en deux temps au cours d'une même tentative : le premier au stade J2 et le second au stade blastocyste [6]. Les résultats sont en cours d'évaluation.

Conditions techniques du transfert embryonnaire par le clinicien

Il faut que tout soit réuni pour faire de ce moment un moment unique. Il est important que la patiente soit détendue, en confiance et que l'ambiance générale soit agréable : pénombre, musique douce, présence du mari.

Le TE est un geste simple, dans la majeure partie des cas, mais d'une importance déterminante pour le succès d'une tentative. Toutes les précautions doivent donc être prises pour en assurer une réalisation aisée et un geste précis. Le clinicien doit tenir compte de toutes les informations concernant l'anatomie utérine, obtenues dans les examens prescrits préalablement, et du rapport des transferts antérieurs éventuels.

Tableau 27.1 Nombre d'embryons transférés et accouchements multiples, quelles que soient la technique et l'origine des gamètes (FIVNAT 2012).

	2009	2010	2011	2012
Nombre d'embryons transférés				
1	31,7 %	33,4 %	36,5 %	39,8 %
2	59 %	57,4 %	55,9 %	54,3 %
3 et +	9,3 %	8,5 %	7,6 %	5,9 %
Accouchements multiples				
Gémellaires	16,7 %	16,2 %	15,9 %	14,5 %
Triples	0,3 %	0,2 %	0,2 %	0,2 %

Remplissage de la vessie

S'il permet un éventuel écho-guidage (voir plus loin), il vise aussi à modifier la bascule d'un utérus antéversé et l'angulation cervicale pour permettre l'alignement du col et du corps utérin et faciliter le passage du cathéter. Par contre, en cas d'utérus rétroversé, il est préférable de vider en partie la vessie, au risque d'accentuer la rétroversion. Par ailleurs, un excès de remplissage vésical peut avoir un effet délétère en créant des contractions utérines.

Préparation du col

Il est conseillé de nettoyer l'orifice externe du col à l'aide de compresses avec du sérum physiologique, du thyrode ou du milieu de culture. Puis, on aspire doucement la glaire avec un système d'aspiration afin d'éviter une rétention des embryons ou une contamination de la cavité : l'analyse du mucus restant parfois à l'extrémité des cathéters peut être positive (*Escherichia coli*, streptocoques) à l'origine d'une baisse du taux d'implantation de moitié [7]. Il faudra par ailleurs veiller à ne pas réaliser une aspiration trop poussée de la glaire qui pourrait entraîner un saignement cervical.

Choix du cathéter de transfert embryonnaire

Il existe différents types de cathéters : à simple lumière ou à double lumière. Un mandrin est parfois associé aux cathéters à double lumière. Ils peuvent être droits ou courbés. La malléabilité des cathéters permet de pouvoir leur donner une certaine courbure qui peut être utile. L'échogénicité peut être nécessaire pour ceux qui ont choisi de faire des transferts écho-guidés. Le bénéfice d'un type de cathéter par rapport à un autre est souvent controversé. Tous les cathéters semblent comparables dès lors qu'ils sont souples car moins traumatisant pour la muqueuse [8]. L'habitude de chaque clinicien d'utiliser un type de cathéter plutôt qu'un autre influe également sur les résultats [9].

Utilisation d'un cathéter d'essai

Elle n'a pas lieu en cas d'utilisation d'un cathéter double lumière où le guide cervical est laissé en place le temps que le biologiste monte le ou les embryons. En cas de cathéters simples, l'utilisation d'un cathéter d'essai est envisageable. Il est possible de la faire à distance de la FIV, lors d'une consultation par exemple. On peut aussi introduire un cathéter d'essai le jour du transfert, sans dépasser l'orifice interne.

Écho-guidage

Deux types de TE existent : soit par écho-guidage, soit à l'aveugle. Le TE sous échographie abdominale, décrit par Strickler en 1985 [10], a plusieurs avantages. L'écho-guidage permet de : redresser l'angulation col–corps grâce au remplissage vésical ; évaluer l'épaisseur et l'aspect de la muqueuse ; dépister une éventuelle hysperstimulation ovarienne débutante qui pourrait faire reporter le TE. Il a surtout pour but de guider le TE en visualisant l'extrémité du cathéter, le site exact de dépôt des embryons et d'éviter de toucher le fond utérin. Beaucoup l'utilisent en routine afin de faciliter le TE et augmenter ainsi les TG [11, 12]. Le TE par échographie endovaginale, vessie vide, est également possible avec une bonne visibilité malgré la gêne de la présence simultanée de la sonde vaginale et du cathéter [13]. Cependant, il n'est pas réellement prouvé que l'écho-guidage soit indispensable. Le TE à l'aveugle [11] reste possible si l'exploration de la cavité utérine (en particulier l'hystérométrie) a été rigoureuse et si un cathéter d'essai a été réalisé au préalable.

Réalisation du transfert embryonnaire

Préparation du cathéter par le biologiste

Le ou les embryons prévus au transfert sont réévalués juste avant l'aspiration et le choix des embryons à transférer peut donc différer de celui prévu initialement. Une seringue de 1 cc est remplie avec du milieu de culture. Après avoir retiré les bulles d'air, la seringue est raccordée au cathéter (dont le type a été choisi par le clinicien). Ce dernier est rincé plusieurs fois avec du milieu de culture. Ce rinçage, effectué par plusieurs aller et retour au niveau du piston de la seringue, permet aussi de fluidifier le mouvement du piston. La seringue est ensuite vidée et le cathéter restant

rempli de milieu de culture. Le biologiste positionne le ou les embryons à l'extrémité du cathéter dans une microgoutte de milieu de culture (entre 20 et 40 μL). Le volume de la microgoutte est important : un volume trop important favorise l'expulsion des embryons hors de la cavité avec le risque de grossesse extra-utérine, un volume trop petit expose au risque de rétention des embryons dans le cathéter. La microgoutte contenant les embryons est le plus souvent encadrée par deux bulles d'air, voire une seule [14]. Cependant, la présence d'air ne semble pas indispensable [15]. Pour éviter que la glaire ne s'insère dans le cathéter, certains rajoutent une goutte de milieu de culture de quelques microlites à l'extrémité du cathéter.

Transfert par le clinicien

L'influence de l'**expérience** du clinicien semble jouer un rôle dans les taux de réussite bien que de nombreux facteurs de confusion rendent difficile l'étude d'un facteur indépendant.

Le TE doit être réalisé dans des **conditions aseptiques** : aspiration de la glaire, ovules d'antiseptiques souvent prescrits les jours précédant le TE. L'obtention d'un alignement du col avec la cavité utérine est requise pour faciliter le TE. Le biologiste apporte le cathéter qui sera préparé au dernier moment, permettant ainsi de garder les embryons à 37 °C.

L'**intervalle de temps** entre le chargement et le déchargement de l'embryon doit être le plus court possible, de moins de 120 secondes. Plus il se prolonge, plus le TG diminue [16]. Le clinicien introduit délicatement le cathéter à travers le canal cervical sans forcer le passage, puis dans la cavité utérine. Le ou les embryons doivent être positionnés en évitant de toucher le fond utérin car source de contractions et de saignements. La **place du dépôt de l'embryon** a été le sujet de controverses. Son dépôt à la partie supérieure de la cavité, à distance du fond, permet les meilleurs TG. La distance à respecter entre l'extrémité du cathéter et le fond utérin est variable selon les études : de 2 cm pour certains [17], entre 5 et 15 mm pour d'autres [18], en moyenne de 1 cm au minimum. Cette distance est évaluée de façon précise grâce à l'écho-guidage. Une fois en place, une pression soutenue sur le piston de la seringue permet de déposer les embryons à l'endroit choisi.

Le **retrait immédiat du cathéter** après le TE ou après 30 secondes ne semble finalement pas avoir d'impact sur les résultats [19]. Ensuite, le cathéter est de nouveau confié au biologiste afin de s'assurer de l'absence de rétention embryonnaire.

Repos et quotidien post-transfert embryonnaire

Le repos post-TE varie entre 10 et 30 minutes. Il est surtout lié à la peur de la patiente de perdre les embryons en se levant trop rapidement et en reprenant une vie active, plutôt qu'à un intérêt « médical » quelconque [20]. Il n'y a en effet aucun risque que l'embryon subisse les effets de la gravitation. On demande aux patientes de reprendre une vie normale, sans culpabiliser sur leurs faits et gestes en cas de non-grossesse. Il en est de même pour les rapports sexuels dont la reprise n'affecte en rien le TG [21].

Facteurs influençant les résultats du transfert embryonnaire

Contractions utérines

Elles ont été étudiées par analyse informatisée de l'activité myométriale par échographie. Le TG diminue lorsque la contractilité augmente [22]. Il est donc capital d'éviter les contractions lors du TE. Leur fréquence est inversement proportionnelle à la progestéronémie le jour du TE, d'où l'intérêt de débuter la supplémentation de la phase lutéale par la progestérone micronisée vaginale dès le jour de la ponction ovocytaire [22, 23]. Ceci explique en partie les meilleurs TG après transfert de blastocystes car l'imprégnation de progestérone est supérieure, résultats également dus au fait que l'embryon a résisté *in vitro* plus longtemps.

Par ailleurs, ne pas toucher le fond utérin avec le cathéter est essentiel [17]. Enfin, le passage du cathéter « en force » [24] au niveau de l'orifice interne est pourvoyeur de spasmes. La détente de la patiente contribue également à éviter les spasmes de l'orifice interne.

Présence de glaire ou de sang sur le cathéter

Comme dit précédemment, il est préconisé d'aspirer la glaire cervicale avant le TE afin de diminuer les risques de contamination et de rétention embryonnaires dans le mucus. Par ailleurs, la présence de sang est souvent la conséquence d'une difficulté de passage. Sa présence au bout du cathéter affecte les TG, contrairement au sang sur les parois qui ne semble pas avoir d'impact [25, 26].

Rétention embryonnaire

Le re-transfert immédiat de l'embryon retenu dans le cathéter fait craindre le déplacement de celui déjà en place dans la cavité, mais il ne semble pas y avoir d'impact sur le TG [27]. L'écho-guidage est particulièrement utile dans ce cas.

Transfert embryonnaire difficile

La seule notion de TE difficile rapportée par le clinicien est corrélée à une baisse des TG. Un passage cervical laborieux à cause d'une sténose cervicale ou une angulation marquée, la présence de sang au bout du cathéter ou le changement de cathéter avec nombreux essais de passage sont des critères péjoratifs [26]. L'utilisation d'une pince de Pozzi est délétère pour certains [24], pas pour d'autres [26]. Elle peut donc être utilisée en cas de nécessité.

En cas de sténose cervicale, il n'est pas recommandé de réaliser une dilatation cervicale le jour du TE, source de contractions et potentiellement traumatisante pour l'endomètre [24]. L'utilisation d'un cathéter à mandrin malléable, double lumière, d'emblée peut être utile dans cette indication. En cas de transfert jugé impossible, la congélation des embryons est toujours une possibilité. Une dilatation cervicale ou la canalisation hystéroscopique sont alors préconisées à distance du TE.

Génétique de l'endomètre et implantation

Il s'agit d'une nouvelle piste en cours d'étude qui va peut-être modifier la stratégie de TE [28]. L'implantation embryonnaire nécessite un dialogue complexe entre l'embryon et l'endomètre et ne peut se produire que pendant une période très courte appelée « fenêtre d'implantation » qui est variable d'un individu à l'autre. L'étude génomique faite à partir de biopsies d'endomètre a permis l'analyse des profils d'expression du génome humain en phase préréceptive et réceptive. Ainsi, 25 % des femmes auraient une modification de cette fenêtre d'implantation. Un décalage du jour du transfert embryonnaire est réalisé dans ce cas, afin de tenter d'augmenter les TG. Cette étude très prometteuse, en cours d'évaluation, peut être particulièrement intéressante chez les patientes jeunes en échec d'implantation, dont la population reste à définir.

Conclusion

Le TE est la dernière étape d'un long parcours. Bien que considéré comme rapide et facile, ce geste ne doit pas être négligé par le praticien, au risque d'anéantir tous les efforts clinico-biologiques visant à obtenir une réponse ovarienne optimale à la stimulation, une ponction ovocytaire productive et une belle qualité embryonnaire. Un bilan pré-transfert préalable précis est indispensable afin de parer à une éventuelle difficulté de passage qui pourrait compromettre les TG. Afin d'améliorer les résultats des TE, il est important d'en standardiser toutes les étapes.

Références

[1] Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S, et al. Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity. Hum Reprod 1997 ; 12 : 1393–8.
[2] Sallam HN, Agameya AF, Rahman AF, et al. Ultrasound measurement of the uterocervical angle before embryo transfer : a propective controlled study. Hum Reprod 2002 ; 17 : 1767–72.
[3] Rama Raju GA, Shashi Kumari G, Krishna KM, et al. Assessment of uterine cavity by hysteroscopy in assisted reproduction programme and its influence on pregnancy out come. Arch Gynecol Obstet 2006 ; 274 : 160–4.
[4] ASRM. Elective embryo transfer. Fertil Steril 2012 ; 97 : 835–42.
[5] Guerif F, Lemseffer M, Bidault R, et al. Single day-2 embryo versus blastocyst-stage transfer : a prospective study integrating fresh and frozen embryo transfers. Hum Reprod 2009 ; 24 : 1051–8.

[6] Goto S, Shiotani M, Kitagawa M, et al. Effectiveness of two-step (consecutive) embryo transfer in patients who have two embryo of day 2 : comparison with cleavage stage embryo transfer. Fertil Steril 2005; 83 : 751–3.

[7] Fanchin R, Harmas A, Benaoudia F, et al. Microbial flora of the cervix assessed at the time of embryo transfer adversely affects in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 1998; 70 : 866–70.

[8] Urman B, Aksoy S, Alatas C, et al. Comparing two embryo transfer catheters. Use of a trial transfer to determine the catheter applied. J Reprod Med 2000; 45 : 135–8.

[9] Yao Z, Vansteelandt S, der Elst Van, et al. The efficacy of the embryo transfer catheters in IVF and ICSI is operator-dependant : a randomized clinical trial. Hum Reprod 2009; 24 : 880–7.

[10] Strickler RC, Christianson C, Crane JP, et al. Ultrasound guidance for human embryo transfer. Fertil Steril 1985; 43 : 54–61.

[11] Brown J, Burckingham K, Abou-Setta AM, et al. Ultrasound versus 'clinical touch' for catheter guidance during embryo transfer in women. Cochrane Database Syst Rev 2010; 1.

[12] Teixeira DM, Dassunçao LA, Vieira CVR. Ultrasound guidance during embryo transfer : a systematic review and meta-analys of randomized controlled trials. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45 : 138–48.

[13] Anderson RE, Nugent NL, Gregg AT, et al. Transvaginal ultrasound-guided embryo transfer improved outcome in patients with previous failed in vitro fertilization cycles. Fertil Steril 2002; 77 : 769–75.

[14] Moreno V, Balasch J, Vidal E, et al. Air in the transfer catheter does not affect the success of embryo transfer. Fertil Steril 2004; 81 : 1366–70.

[15] Mansour RT, Aboulghar MA, Serout GI, et al. Dummy embryo transfer using methylene blue dye. Hum Reprod 1994; 9 : 1257–9.

[16] Matorras R, Mendoza R, Exposito A, et al. Influence of the time interval between embryo catheter loading and discharging of the success of IVF. Hum Reprod 2004; 19 : 2027–30.

[17] Pope CS, Cook EK, Arny M, et al. Influence of embryo transfer depth of in-vitro fertilization and embryo transfer outcomes. Fertil Steril 2004; 81 : 51–8.

[18] Rovei V, Dalmasso P, Gennarelli G, et al. IVF outcome is optimized when embryos are replaced between 5 and 15 mm from the fundal endometrial surface : a propective analysis on 1184 IVF cycles. Reprod Biol Endoc 2013; 11 : 114.

[19] Martinez E, Coroleu B, Parriego M, et al. Ultrasound-guided embryo transfer : immediate withdrawall of the catheter versus of 30 second wait. Hum Reprod 2001; 16 : 871–4.

[20] Purcell KJ, Schembri M, Telles TL, et al. Bed rest after embryo transfer : a randomized controlled trial. Fertil Steril 2007; 87 : 1322–6.

[21] Tremellen KP, Valbuena D, Landeras J, et al. The effect of intercourse on pregnancy rates during assisted human reproduction. Hum Reprod 2000; 15 : 2653–8.

[22] Fanchin R, Righini C, De Ziegler D, et al. Effects of vaginal progesterone administration on uterine contractility at the time of embryo transfer. Fertil Steril 2001; 75 : 1136–40.

[23] Ayoubi JM, Fanchin R, Kaddouz D, et al. Uterorelaxing effects of vaginal progesterone : comparaison of two methodologies for assessing uterine contraction frequency on ultrasound scans. Fertil Steril 2001; 76 : 736–40.

[24] Gharrari F, Kiani K, Bahmanabadi A, et al. Comparaison of easy and difficult embryo transfer outcomes in in vitro fertilization cycles. IJFS 2012; 6 : 232–7.

[25] Goudas VT, Hammit DG, Damario MA, et al. Blood on the embryo transfer catheter is associated with decreased rates of embryos implantation and clinical pregnancy with the use of in vitro fertilization-embryo transfer. Fertil Steril 1998; 70 : 878–82.

[26] Sallam HN, Agameya AF, Rahman AF, et al. Impact of technical difficulties, choise of catheter and the presence of blood on the success of embryo transfer-experience from a single provider. J Assist Reprod and Genet 2003; 20 : 135–42.

[27] Lee HC, Seifer DB, Shelden RM. Impact of retainded embryos of the outcome of assisted reproductive technologies. Fertil Steril 2004; 82 : 334–7.

[28] Diaz-Gimeno P, Ruiz-Alonso M, Blesa D, et al. The accuracy and reproducibility of the endometrial receptivity array is superior to histology as a diagnostic method for endometrial receptivity. Fertil Steril 2013; 99 : 508–17.

Quel soutien pour la phase lutéale ?

Chapitre 28

C. Avril

L'hyperstimulation ovarienne contrôlée en vue de FIV (fécondation *in vitro*)/ICSI *(intracytoplasmic sperm injection)* implique une désensibilisation hypophysaire par agoniste ou antagoniste du GnRH *(gonadotropin-releasing hormone)* qui durant la phase lutéale précoce diminue la libération endogène de gonadotrophines. C'est l'activité prolongée de l'hCG *(human chorionic gonadotropin)* qui soutient les corps jaunes multiples, induisant des concentrations supraphysiologiques d'œstradiol et de progestérone en début de phase lutéale qui, par rétrocontrôle négatif, diminuent elles-mêmes la production endogène de LH *(luteinizing hormone)*. Lorsque l'hCG administrée pour le déclenchement diminue, les corps jaunes ne sont plus soutenus et on observe une baisse importante et prématurée des taux de progestérone en milieu de phase lutéale. Le profil observé est donc différent du cycle menstruel normal, où le pic de progestérone et d'œstradiol est observé en milieu et non pas en début de phase lutéale [1]. Le rôle de la progestérone en phase lutéale est crucial pour l'implantation embryonnaire. Il est donc nécessaire de soutenir la phase lutéale pour améliorer le taux d'implantation embryonnaire.

Le soutien de la phase lutéale n'a pas fait l'objet du même intérêt que les autres phases de traitement. Une méta-analyse (revue Cochrane) publiée en 2004 a été actualisée en 2011 [2] : 69 études avec un total de 16 327 femmes pour l'ensemble des comparaisons ont été retenues mais les risques de biais sont apparus élevés en raison d'une grande variabilité des doses, des dates et des modes d'administration. Par ailleurs, la plupart des études retenues sont très anciennes (1987 à 2011) et donc en protocole long agoniste avec déclenchement à l'hCG. Les études les plus récentes publiées depuis concernent essentiellement le soutien de la phase lutéale après déclenchement par agonistes en cycle antagoniste.

Progestérone

Elle induit des modifications histologiques et de l'expression des gènes endométriaux qui permettent à l'endomètre d'être réceptif 5 à 6 jours après l'ovulation ; elle entraîne une baisse des contractions utérines, elle aussi favorable à l'implantation embryonnaire.

La Cochrane de 2011 [2] a retenu huit études (875 femmes) comparant la progestérone à un placebo ou à aucun traitement. Les résultats montrent un effet hautement significatif en faveur de la progestérone pour le taux de naissance. En l'absence de supplémentation par la progestérone, les taux de grossesses varient entre 0 et 18 % par transfert. L'administration de progestérone en phase lutéale est le gold standard et son utilité ne fait pas de doute, mais les doses, les dates, les modes et les voies d'administration sont très variables et font encore débat.

Plusieurs modes d'administration ont été étudiés : oral, vaginal et intramusculaire (IM). La biodisponibilité est moindre par voie orale en raison du premier passage hépatique. Le débat persiste sur la comparaison entre voie vaginale et voie IM. Les taux plasmatiques sont plus élevés par voie intramusculaire (29,4 *versus* 4,8 ng/mL) mais au niveau de l'endomètre les concentrations sont plus basses (0,43 *versus* 1,05 ng/mL) [3]. C'est « le premier passage utérin » de la progestérone administrée par voie vaginale qui explique ces concentrations plus élevées [4]. Les taux d'implantation et de grossesse, le risque de fausses couches sont néanmoins les mêmes qu'il s'agisse

de la voie vaginale ou intramusculaire [5]. Les études randomisées les plus récentes concernent un gel vaginal *versus* la progestérone IM et elles ne retrouvent pas de différence en termes de taux d'implantation embryonnaire et de risque de fausse couche [5, 6]. Elles retrouvent un avantage en termes de confort de la patiente à la voie vaginale [7]. La dose utilisée en IM est habituellement de 50 mg mais peut attendre 75 mg. En France, c'est la progestérone micronisée par voie vaginale à la dose de 600 mg/jour qui est utilisée quasi exclusivement. Les études concernant ce produit sont plus anciennes [8] et ont toutes été réalisées en protocole long agoniste.

Cinq études randomisées ont comparé différentes dates d'introduction de la progestérone : il semble y avoir une fenêtre entre le soir du prélèvement d'ovocytes et 3 jours après la ponction ovocytaire [2]. Un début plus précoce (avant la ponction) ou plus tardif semble délétère [9]. Bien que les données physiologiques aient suggéré un bénéfice potentiel à commencer 2 jours après la ponction ovocytaire puisque l'imprégnation en progestérone endogène reste très élevée jusqu'à cette date, il n'y a pas d'essai randomisé qui permette de l'attester formellement.

hCG

L'hCG stimule la sécrétion d'œstradiol et de progestérone par les corps jaunes.

Cinq études (746 femmes) retenues dans la Cochrane de 2011 [2] ont comparé hCG *versus* placebo ou aucun traitement : le taux de grossesses évolutives est augmenté mais avec un risque significativement plus élevé de syndrome d'hyperstimulation ovarienne.

Cinq études (2117 femmes) ont comparé la progestérone à l'hCG et à l'hCG + progestérone et les résultats sont identiques, sauf pour le risque d'hyperstimulation qui est accru si on utilise de l'hCG.

Les auteurs de la Cochrane 2011 concluent que l'hCG ne devrait plus être utilisée en phase lutéale après protocole long agoniste en raison du risque d'hyperstimulation ovarienne et de l'absence de preuve d'une efficacité supplémentaire par rapport à la progestérone seule. L'administration d'hCG en phase lutéale double le risque d'hyperstimulation ovarienne.

Œstrogènes

Contrairement à l'importance de la progestérone qui est parfaitement établie, le rôle de l'œstradiol sur l'endomètre et l'implantation embryonnaire en phase lutéale est mal connu et les résultats de la littérature sont discordants.

La voie d'administration peut être orale, vaginale ou transdermique selon les études. Le début du traitement est généralement le lendemain de la ponction. Les doses utilisées varient de 2 à 6 mg/jour de valerate d'œstradiol par voie orale et d'un à quatre patchs de 0,1 mg d'œstradiol par voie transdermique.

La méta-analyse de Pritts et Atwood (2002) a suggéré que l'association œstradiol à la dose de 6 mg et progestérone est le meilleur soutien de la phase soutien lutéale en protocole agoniste [10].

En 2010 une méta-analyse de neuf essais randomisés [11] a évalué l'apport de l'ajout de l'œstradiol à la supplémentation classique en progestérone dans des cycles agonistes et antagonistes. Elle n'a retrouvé aucune différence statistiquement significative ni sur les taux d'implantation ni sur les taux de grossesses cliniques, de fausses couches et de grossesses extra-utérines [11]. Par la suite, d'autres études ont rapporté des résultats similaires [12]. Aghahosseini a montré en 2011 dans une étude randomisée que la supplémentation lutéale en œstradiol n'améliore pas les taux d'implantation embryonnaire chez la mauvaise répondeuse [13].

Dans la Cochrane de 2011, neuf études (1571 femmes) ont comparé la progestérone à la progestérone + œstrogène. Les résultats ont été subdivisés par la voie d'administration et seule la voie transdermique pourrait être intéressante. C'est l'absence de premier passage hépatique qui peut expliquer l'efficacité de cette voie. Par voie vaginale, les études sont trop peu nombreuses pour conclure [2]. Fahri *et al.* (2000), dans une étude prospective randomisée, a montré un intérêt chez les femmes qui avaient un œstradiol supérieur à 2500 pg/mL en protocole long agoniste [14]. Fatemi en 2010 dans une étude randomisée n'a pas montré d'intérêt à l'ajout de 4 mg d'œstradiol en phase lutéale en protocole antagoniste [15]. Une étude randomisée de 2013 sur 110 tentatives de FIV en protocole antagoniste a montré une augmentation des taux d'implantation embryonnaire

chez les patientes recevant 4 mg de valérate d'œstradiol par voie orale en plus du gel de progestérone par rapport à celles recevant de la progestérone seule [16].

Protocole antagoniste et déclenchement par agonistes de la GnRH

En protocole antagoniste, l'utilisation d'un bolus de GnRH agoniste est efficace pour déclencher la maturité ovocytaire, mais ne permet pas d'assurer le soutien des corps jaunes en début de phase lutéale car la demi-vie du pic de LH induit par l'agoniste est court [17, 18]. Dans le modèle du don d'ovocytes ou aucune supplémentation n'est réalisée, les règles peuvent survenir 5 jours après la ponction. Les deux méta-analyses en 2006, puis la Cochrane de 2014 avaient conclu à des taux de grossesses plus bas et de fausses couches plus élevés [19, 20].

Depuis, plusieurs supplémentation ont été suggérées : l'approche américaine avec de la progestérone par voie IM 50 à 75 mg associée à de fortes doses d'œstrogènes en patch jusqu'à quatre patchs de 0,1 mg d'œstradiol ; l'approche européenne avec de faibles doses d'hCG ou de LH en phase lutéale pour soutenir le corps jaune. Ceci réduit le risque d'hyperstimulation ovarienne par rapport à un déclenchement à l'hCG et permet un profil d'œstradiol et de progestérone en phase lutéale plus proche de la physiologie [21]. Humaidan a démontré en 2013 dans une étude randomisée qu'avec une dose de 1500 unités d'hCG le jour de la ponction, aucune hyperstimulation ovarienne n'a été observée, alors que deux cas sont survenus lorsqu'une dose itérative a été administrée 5 jours plus tard. Le taux d'hyperstimulation était de 3,4 % après déclenchement par 5000 unités d'hCG [22].

Adjuvants durant la phase lutéale en FIV/ICSI

Ils ont pour objectifs d'améliorer la réceptivité endométriale et d'éviter de transférer un embryon viable dans des conditions qui diminuent ses chances d'implantation [23].

Les mécanismes potentiels qui ont été impliqués dans la réceptivité endométriale peuvent être d'ordre immunitaire, liés à une perfusion utérine trop basse, à une insuffisance de soutien de la phase lutéale ou à une asynchronie entre l'endomètre et l'embryon. Différents traitements adjuvants ont été proposés pour répondre à ces hypothèses, mais il est souvent difficile de tirer des conclusions cliniques des études proposées qui sont souvent limitées [23].

Corticostéroïdes

Les corticostéroïdes ont une activité anti-inflammatoire et immunosuppressive. Ils pourraient donc améliorer le micro-environnement intra-utérin en réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires de l'endomètre et de l'activité des cellules NK *(natural killer)* [24]. La plupart des études utilisent de faibles doses (10 mg de prednisolone/jour) durant la période pré-implantatoire (4 à 7 jours), ce qui limite le risque d'effets secondaires [23].

La Cochrane 2012 [25] a repris les études sur l'effet de l'utilisation de corticostéroïdes de manière empirique en FIV et en ICSI. Quatorze études impliquant un total de 1879 couples ont été incluses : les corticostéroïdes n'améliorent pas le taux de grossesses cliniques (odds ratio ou OR : 1,16 ; intervalle de confiance ou IC95 % : 0,94–1,44) ni le taux de naissances vivantes (OR : 1,21 ; IC95 % : 0,67–2,19). Une analyse de sous-groupes de patients a révélé un taux de grossesses significativement plus élevé chez les FIV qui prennent des corticostéroïdes (OR : 1,5 ; IC95 % : 1,05–2,13), mais le niveau de preuve n'est pas suffisant pour en recommander l'utilisation.

Un débat existe sur l'association entre la présence d'auto-anticorps (antiphospholipides, anticardiolipides, anticoagulant circulant, antithyroïdiens, antinucléaires, anti-ovariens) et des taux d'implantation embryonnaire plus bas en raison d'une moins bonne perfusion utérine. Les résultats de la littérature sont discordants et les séries limitées à une cinquantaine de femmes chacune. Le niveau de preuve pour en recommander l'utilisation dans cette indication est bas.

Polanski en 2014 a repris les études sur l'utilisation des glucocorticoïdes chez les femmes ayant un taux de lymphocytes NK élevé et a retrouvé une seule étude qui montrait une augmentation des taux de grossesses cliniques (OR : 1,63, IC95 % : 1,00–2,66) et il conclut qu'il n'y a pas d'évidence à les utiliser dans cette indication [26].

Aspirine

L'aspirine utilisée à faible dose (100 à 160 mg/jour selon les études) est un inhibiteur de la cyclo-oxygénase, elle transforme la thromboxane A2 en prostacycline et elle a un effet anti-agrégant plaquettaire. Elle a un effet vasodilatateur et augmente le flux sanguin périphérique et donc utérin. Wada a évoqué dès 1994 l'influence positive potentielle sur les taux d'implantation embryonnaire [23].

L'effet bénéfique de l'aspirine est établi chez les femmes atteintes du syndrome des antiphospholipides et présentant des fausses couches à répétition. Il est aussi démontré que l'aspirine peut prévenir la pré-éclampsie chez les femmes à risque.

Par contre, son rôle dans l'implantation embryonnaire n'est pas démontré. Après plusieurs méta-analyses contradictoires, la Cochrane 2011 a conclu que l'utilisation de l'aspirine n'améliore pas le taux de grossesses [27]. Dans cette méta-analyse,13 études avec au total 2653 femmes ont été incluses. Aucune différence significative n'a été trouvée entre l'aspirine et le groupe témoin pour le taux de naissances vivantes (risque relatif ou RR : 0,91 ; IC95 % : 0,72–1,15), le taux de grossesses cliniques (RR : 1,03 ; IC95 % : 0,91–1,17) et le taux de fausses couches (RR : 1,10 ; IC95 % : 0,68–1,77).

Une méta-analyse de 2013 qui compare 131 femmes enceintes après FIV ou ICSI traitées par aspirine à 137 femmes sous placebo ne retrouve pas d'effet bénéfique de l'aspirine initiée en préconceptionnel sur la prévention de l'hypertension artérielle gravidique et de la prématurité [28, 29].

Héparine de bas poids moléculaire

Les héparines de bas poids moléculaire (HBPM) sont la forme dépolymérisée de l'héparine avec une demi-vie plus longue et une augmentation de la biodisponibilité. L'héparine exerce son effet antithrombotique par l'inhibition du facteur Xa et de la thrombine. En plus de son action sur la coagulation, l'héparine influe sur l'implantation embryonnaire par divers mécanismes : l'inhibition de la production d'*insuline-like growth-factor-binding protein* (IGF-BP) ; la régulation du facteur de croissance épidermique liant l'héparine (*heparin-binding epidermal growth factor* ou HB-EGF) ; la réduction de l'expression des molécules d'adhésion telles que l'E-cadhérine qui favorise l'invasion trophoblastique ; le blocage de l'activation du complément ; la modulation de réponses inflammatoires [23].

Chez les femmes présentant un syndrome antiphospholipide, durant la phase de stimulation ovarienne la cascade de la coagulation est activée et la fibrinolyse altérée. La thrombophilie provoque des micro-thrombus sur le site d'implantation embryonnaire conduisant à une altération de l'invasion des vaisseaux maternels par le syncytiotrophoblaste [23]. Chez ces femmes, l'héparine peut potentiellement éviter des anomalies de la placentation et donc des complications obstétricales.

L'action sur le taux d'implantation embryonnaire est plus controversée. Les études observationnelles ont donné des résultats contradictoires.

La méta-analyse publiée en 2013 a étudié l'effet des HBPM sur les taux d'implantation chez des femmes présentant au moins trois échecs d'implantation [30]. Elle a montré une tendance non significative à l'amélioration des taux d'implantation embryonnaire et un effet bénéfique très significatif sur les taux de naissances et la réduction des fausses couches. Ces effets bénéfiques disparaissent si on exclut l'étude qui incluait des femmes avec thrombophilie. Les auteurs ont conclu que l'utilisation systématique des HBPM comme adjuvant dans la FIV ne doit pas être préconisée.

La Cochrane 2013 [31] comprenait trois études dont deux étaient communes à la méta-analyse, mais la troisième était un essai randomisé qui a utilisé des HBPM chez des femmes lors du premier cycle de FIV.

Le niveau de preuve de l'efficacité des HBPM sur l'implantation embryonnaire est faible de telle sorte que son utilisation en routine dans les échecs inexpliqués d'implantation n'est pas justifiée en dehors des cas de thrombophilie [23, 31].

Références

[1] Fauser BC, Devroey P. Reproductive biology and IVF : ovarian stimulation and luteal phase consequences. Trends Endocrinol Metab 2003 ; 14 : 236–42.

[2] Van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, et al. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. Cochrane Database Syst Rev 2011 ; 10.

[3] Cicinelli E, de Ziegler D, Bulletti C, et al. Direct transport of progesterone from vagina to uterus. Obstet Gynecol 2000 ; 95 : 403–6.

[4] Lightman A, Kol S, Itskovitz-Eldor J. A prospective randomized study comparing intramuscular with intravaginal natural progesterone in programmed thaw cycles. Hum Reprod 1999 ; 14 : 2596–9.

[5] Andersen YC, Andersen VK. Improving the luteal phase after ovarian stimulation : reviewing new options. Reprod Biomed Online 2014 ; 28 : 552–9.

[6] Smitz J, Devroey P, Faguer B. A prospective randomized comparison of intramuscular or intravaginal natural progesterone as a luteal phase and early pregnancy supplement. Hum Reprod 1992 ; 7 : 168–75.

[7] Borini A, Dal Prato L, Bianchi L, et al. Vaginal gel versus intramuscular progesterone for luteal phase supplementation : a prospective randomized trial. Reprod Biomed Online 2008 ; 14 : 361–7.

[8] Smitz J, Devroey P, Faguer B, et al. A randomized prospective study comparing supplementation of the luteal phase and early pregnancy by natural progesterone administered by intramuscular or vaginal route. Rev Fr Gynecol Obstet 1992 ; 87 : 507–16.

[9] Connell M, Szatkowski J, Terry N, et al. Timing luteal support in assisted reproductive technology : a systematic review. Fertil Steril 2015 ; 103 : 939–46.

[10] Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment : a meta-analysis of the randomized trials. Hum Reprod 2002 ; 17 : 2287–99.

[11] Jee BC, Suh CS, Kim SH, et al. Effects of estradiol supplementation during the luteal phase of in vitro fertilization cycles : a meta-analysis. Fertil Steril 2010 ; 93 : 428–36.

[12] Lin H, Li Y, Li L, et al. Oral oestradiol supplementation as luteal support in IVF/ICSI cycles : a prospective, randomized controlled study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2013 ; 167 : 171–5.

[13] Aghahosseini M, Aleyassin A, Khodaverdi S, et al. Estradiol supplementation during the luteal phase in poor responder patients undergoing in vitro fertilization : a randomized clinical trial. J Assist Reprod Genet 2011 ; 10 : 785–90.

[14] Fahri J, Weissman A, Steinfeld Z, et al. Estradiol supplementation during the luteal phase may improve the pregnancy rate in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer cycles. Fertil Steril 2000 ; 73 : 761–5.

[15] Fatemi HM, Kolibianakis EM, Camus M, et al. Addition of estradiol to progesterone for luteal supplementation in patients stimulated with GnRH antagonist/rFSH for IVF : a randomized controlled trial. Human Reprod 2006 ; 21 : 2628–32.

[16] Kwon SK, Kim CH, Lee KH, et al. Luteal estradiol supplementation in gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles for infertile patients in vitro fertilization. Clinical and Experimental Reproductive Medicine 2013 ; 40 : 131–4.

[17] Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, et al. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization : a prospective randomized trial comparing fresh and frozen thawed embryo transfers in high responders. Fertil Steril 2011 ; 96 : 516–8.

[18] Beckers NG, Macklon NS, Eijkemans MJ, et al. Non supplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation in in vitro fertilization patients afterovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRH antagonist cotreatment. J Clin Endocrinol Metab 2003 ; 88 : 4186–92.

[19] Engmann L, DiLuigi A, Schmidt D, et al. The use of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce oocyte maturation after cotreatment with GnRH antagonist in high-risk patients undergoing in vitro fertilization prevents the risk of ovarian hyperstimulation syndrome : a prospective randomized controlled study. Fertil Steril 2008 ; 89 : 84–91.

[20] Youssef MA, van der Veen F, Al-Inany HG, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. Cochrane Database Syst Rev 2014 ; 10.

[21] Humaidan P, Polyzos P, Alsbjerg NP, et al. GnRHa trigger and individualized luteal phase hCG support according to ovarian response to stimulation : two prospective randomized controlled multi-centre studies in IVF patients. Hum Reprod 2013 ; 28 : 2511–21.

[22] Humaidan P, Engmann L, Benadiva CL. Luteal phase supplementation after gonadotropin-releasing hormone agonist trigger in fresh embryo transfer : the American versus European approaches. Fertil Steril 2015 ; in press.

[23] Nardo L, El-Toukhy T, Stewart J, et al. British Fertility Society Policy and Practice Committee : adjuvants in IVF : evidence for good clinical practice. Human Fertil (Camb) 2014 ; 18 : 2–15.

[24] Boomsma CM, Macklon NS. Does glucocorticoid therapy in the peri-implantation period have an impact on IVF outcomes ? Curr Opin Obstet Gynecol 2008 ; 20 : 249–56.

[25] Boomsma CM, Keay SD, Macklon NS. Peri-implantation glucocorticoid administration for assisted reproductive technology cycles. Cochrane Database Syst Rev 2012 ; 6.

[26] Polanski LT, Barbosa MA, Martins WP, et al. Interventions to improve reproductive outcomes in women with elevated natural killer cells undergoing assisted reproduction techniques : a systematic review of literature. Hum Reprod 2014 ; 29 : 65–75.

[27] Siristatidis CS, Dodd SR, Drakeley AJ. Aspirin for in vitro fertilisation. Cochrane Database Syst Rev 2011 ; 8.

[28] Groeneveld E, Broeze KA, Lambers MJ, et al. & IPDMARIA study group. Is aspirin effective in women undergoing in vitro fertilization (IVF) ? Results from an individual patient data meta-analysis (IPDMA). Hum Reprod Update 2011 ; 17 : 501–9.

[29] Groeneveld E, Lambers MJ, Lambalk CB, et al. Preconceptional low-dose aspirin for the prevention of hypertensive pregnancy complications and preterm delivery after IVF : a meta-analysis with analysis with individual patient data. Hum Reprod 2013 ; 28 : 1480–8.

[30] Potdar N, Gelbaya TA, Konje JC, Nardo LG. Adjunct low-molecular-weight heparin to improve live birth rate after recurrent implantation failure : a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update 2013 ; 19 : 674–84.

[31] Akhtar MA, Sur S, Raine-Fenning N, et al. Heparin for assisted reproduction. Cochrane Database Syst Rev 2013 ; 8.

Chapitre 29

Quand faut-il conseiller d'arrêter l'assistance médicale à la procréation classique ?

J.-M. Antoine, E. Mathieu d'Argent, L. Selleret

Lorsque plusieurs tentatives d'assistance médicale à la procréation (AMP) classique n'ont pas permis l'obtention d'embryons de bonne qualité ou en l'absence de grossesse après transfert de nombreux embryons frais et congelés, la question se pose de persister dans cette approche ou de conseiller son arrêt [1]. La motivation de nombreux couples est telle qu'ils demandent souvent à poursuivre, y compris s'ils ont connaissance d'un taux de succès devenu faible. Au motif qu'elle est remboursée dans certaines limites, ils vont parfois jusqu'à faire état d'un « droit à l'AMP », voire d'un « droit à l'enfant ».

N'étant pas prestataire de service mais engageant sa propre responsabilité, l'équipe clinico-biologique n'est pas tenue de répondre positivement à toute demande. Son évaluation de chaque cas individuel sur des critères médicaux peut l'amener à conseiller un arrêt de prise en charge en AMP classique, lorsque les chances de succès résiduelles lui paraissent très faibles et/ou le rapport bénéfice/risque trop défavorable.

Nombre élevé de tentatives sans résultat

Lorsqu'il est permis de penser qu'elles ont toutes été faites dans de bonnes conditions, le cumul des tentatives faites dans le centre et dans d'autres centres doit être pris en compte. La limitation du remboursement par la Sécurité sociale à un maximum de six inséminations et/ou quatre ponctions d'ovocytes en vue de fécondation *in vitro* (FIV)/*intracytoplasmic sperm injection* (ICSI), suivies d'au moins un transfert d'embryon pour l'obtention d'une grossesse, constitue un puissant facteur limitant. Lorsque le pronostic reste favorable, une 5e (voire une 6e) tentative est parfois envisageable aux frais du couple, mais il n'est habituellement pas raisonnable d'aller au-delà.

Non-obtention d'ovocytes de bonne qualité

C'est une cause majeure d'arrêt de l'AMP classique : faible nombre d'ovocytes obtenus, proportions trop importantes d'ovocytes dégénératifs ou immatures à répétition. Les différents facteurs étiologiques sont liés entre eux :

- **âge avancé de la femme** (figure 29.1) : c'est le facteur clé d'une mauvaise performance à tous les stades de la procédure et de l'absence de naissance vivante [2, 3]. Il augmente le coût pour l'obtention d'un enfant [4] et conduit la Sécurité sociale à arrêter tout remboursement de l'AMP au 43e anniversaire. Avant ce seuil, il peut constituer une indication d'arrêt de prise en charge classique si aucune autre cause d'infertilité ne s'y associe, en particulier si des grossesses non évolutives sont déjà survenues spontanément ;

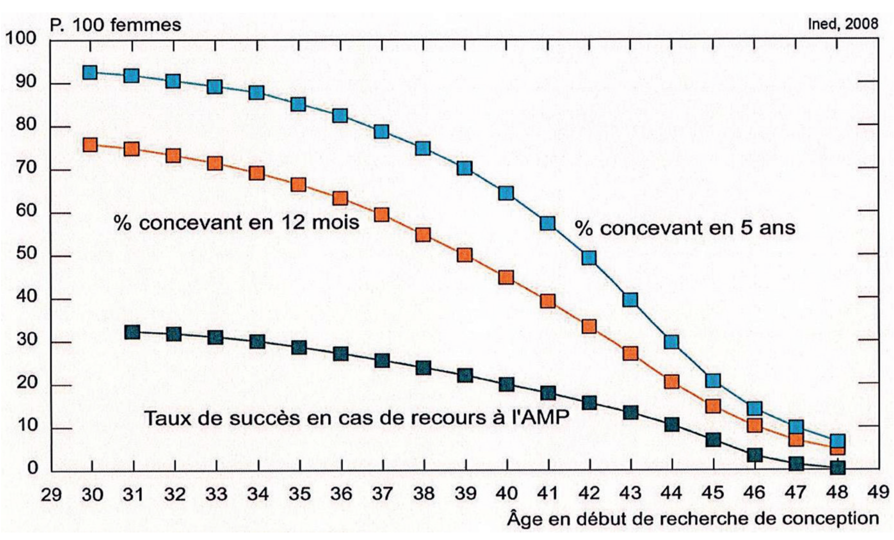


Figure 29.1 Probabilité d'obtenir une grossesse (conduisant à une naissance vivante) selon l'âge en début de tentative : spontanément en 12 mois ou en 5 ans, au moyen d'un traitement d'aide médicale (deux tentatives de FIV) Modèle de simulation (Leridon, 2004 et 2005).
Source : www.ined.fr Les mémos de la Démo – Note d'Analyse. https://www.ined.fr/fr/tout-savoir-population/memos-demo/analyses/fertilite-age/

- **longue durée d'infertilité :** il s'agit également d'un facteur pronostic défavorable, mais son impact est moins significatif que celui de l'âge de la femme;
- **altération de la réserve ovarienne :** en dehors de l'âge, elle peut être liée également à des antécédents familiaux, au tabac, à des antécédents de chirurgie ovarienne, de chimiothérapie et/ou de radiothérapie sans possibilité de préservation de la fertilité. Suspectée sur le raccourcissement des cycles, elle est confirmée par la réduction du volume ovarien et du compte des follicules antraux le 3e jour du cycle et des modifications à la même date des dosages plasmatiques d'AMH *(anti-mullerian hormone)*, de FSH *(follicle-stimulating hormone)* et d'œstradiol.

  L'association d'une insuffisance ovarienne (influant sur la quantité des ovocytes en réserve) et d'un âge avancé (altérant leur qualité) est particulièrement défavorable;
- **échec d'une stimulation ovarienne à forte dose** (jusqu'à 450 UI/jour de FSH autorisées) **en protocole adapté au risque de réponse ovarienne insuffisante :** l'augmentation des doses de FSH administrées est susceptible d'améliorer le nombre de follicules obtenus et le taux d'œstradiol plasmatique, mais peu le taux de grossesses, probablement du fait d'un problème de qualité ovocytaire fréquemment associé avec l'âge;
- **annulations de cycles ou transformation en insémination intra-utérine** pour ne pas perdre le bénéfice du traitement;
- **échec du recueil des ovocytes :**
  - après élimination d'un déclenchement non fait ou fait trop tôt par erreur,
  - il s'agit parfois d'un syndrome des follicules vides, d'une prépondérance d'ovocytes atrétiques ou dégénératifs,
  - ou surtout d'un problème technique lors de la ponction : importante obésité, ovaires très haut situés, femmes multi-opérées, pelvis très adhérentiels, antécédents de fistules digestives, de colostomies, rendant la ponction dangereuse et constituant des facteurs de risque en cas de grossesse obtenue, notamment de césarienne en urgence.

Échecs liés à l'homme

Ils sont moins fréquents depuis l'ICSI, même s'il persiste des absences de fécondation après ICSI ou IMSI *(intracytoplasmic morphologically selected sperm injection)* [5].

L'âge limite de l'homme ne fait pas l'objet d'un consensus : certains centres retiennent 60 ans, en considérant l'altération progressive de la qualité des spermatozoïdes, le risque malformatif et l'intérêt supposé de l'enfant. Il s'associe souvent à un âge également avancé de la partenaire, mais le problème est plus délicat à trancher lorsqu'elle est jeune et fertile, avec une différence d'âge très importante.

Échecs du recueil des spermatozoïdes : lorsqu'ils sont prévisibles et sous réserve d'une qualité de sperme suffisante, une congélation préalable permet de disposer d'une réserve de spermatozoïdes, en donnant la préférence à un nouvel essai de recueil de sperme frais. En cas d'azoospermie, des prélèvements épididymaires ou testiculaires, même multiples, peuvent ne pas mettre en évidence les spermatozoïdes nécessaires pour la micro-injection.

Antécédents de plusieurs biopsies testiculaires déjà réalisées : ils conduisent l'équipe médicale ou l'homme lui-même à en refuser une nouvelle.

Altération majeure de la qualité des spermatozoïdes : cryptozoospermie extrême, absence complète de mobilité et de vitalité, taux de fragmentation très élevé non amélioré par des traitements préalables, avec absence ou très faible taux de fécondation malgré l'ICSI.

Échecs du développement embryonnaire *in vitro*

Ils peuvent être liés à l'un des deux gamètes, ou aux deux. Ils se manifestent par : une fragmentation précoce des embryons faisant proposer un transfert au stade zygote [6], un blocage de leur développement et finalement peu ou pas d'embryons transférables, sans jamais d'embryon congelé.

Échecs du transfert embryonnaire dans la cavité utérine

Il peut s'avérer difficile voire impossible du fait d'une sténose cervicale infranchissable, d'une angulation majeure, d'une fausse route, conduisant à un transfert sous anesthésie générale, intratubaire par cœlioscopie si au moins une trompe est normale ou transmyométrial dans le cas contraire.

Échecs répétés d'implantation

C'est l'étape la plus mal maîtrisée, source de la majorité des échecs, dont les causes potentielles sont multiples et encore mal connues [7, 8] :

- l'insuffisance du nombre et surtout de la qualité des embryons transférés constitue une cause majeure : principalement liée à l'âge de la femme et à des anomalies chromosomiques ovocytaires, spermatiques ou embryonnaires, elle conduit à un arrêt de développement précoce. Les solutions proposées n'ont qu'une efficacité relative : changement du protocole de stimulation ovarienne, amélioration de la surveillance du traitement, augmentation du nombre d'embryons transférés, cultures prolongées pour une meilleure sélection des embryons, étude pré-implantatoire des embryons dans certains pays ;
- un épaississement ou une dureté anormale de la zone pellucide entourant l'embryon peuvent rendre impossible sa sortie hors de cette enveloppe : l'éclosion assistée permet certains succès ;
- l'endomètre peut être rendu impropre à la nidation par des perturbations hormonales, post-traumatiques (synéchies fibreuses étendues), infectieuses, immunologiques, vasculaires ;
- diverses anomalies du myomètre, comme une adénomyose majeure ou un utérus polymyomateux multi-opéré, réduisent les chances d'implantations de façon définitive.

Échecs de l'évolution des grossesses

Les grossesses biochimiques ou non évolutives à répétition sont liées principalement à l'âge maternel élevé.

Risques excessifs

Une allergie au traitement de stimulation, un risque de cancer post-AMP, un antécédent d'hyperstimulation grave, un risque hémorragique, infectieux, thrombo-embolique, psychiatrique, lié à la grossesse tardive (hypertension, diabète, hypertension artérielle), à un utérus multicicatriciel, à un antécédent de placenta accreta, de rupture utérine malgré le transfert embryonnaire unique, peuvent dans certains cas sévères conduire à conseiller un arrêt de l'AMP classique.

Conclusion

Toutes ces données doivent faire l'objet d'une analyse bénéfice/risque précise en réunion de concertation pluridisciplinaire. Chaque décision est suivie d'un compte rendu écrit, qui est adressé au couple et aux médecins correspondants. Tout avis d'arrêt de prise en charge est accompagné d'une proposition d'en rediscuter pour expliquer les arguments médicaux et proposer d'autres approches palliatives comme le don d'ovocytes, le don de sperme, l'accueil d'embryons ou l'adoption. À la demande du couple, les éléments du dossier peuvent être transférés à une autre équipe médicale, en vue d'un second avis. En dernier recours, il reste à suggérer au couple la poursuite d'essais de grossesse spontanée, en lui rappelant les chances de succès faibles mais non nulles, dont témoignent parfois certaines bonnes surprises tardives.

Références

[1] Check JH. In vitro fertilization is expensive : when should a couple be advised to stop trying with their own gametes and seek other options? Review of three cases. Clin Exp Obstet Gynecol 2008; 35 : 5–9.

[2] Pouly JL, Ouziel L, Gremeau AS, et al. Analyse des facteurs influençant les taux cumulatifs d'accouchement en AMP sur une cohorte de 1001 couples. Gynecol Obstet Fertil 2012; 40 : 219–25.

[3] Bhattacharya S, Maheshwari A, Mollison J. Factors associated with failed treatment : an analysis of 121,744 women embarking on their first IVF cycles. PLoS One 2013; 8. e82249.

[4] Griffiths A, Dyer SM, Lord SJ, et al. A cost-effectiveness analysis of in-vitro fertilization by maternal age and number of treatment attempts. Hum Reprod 2010; 25 : 924–31.

[5] Durand M, Sifer C. Échecs complets de fécondation après FIV ou ICSI : peut-on les prédire? Conduite à tenir? Gynecol Obstet Fertil 2013; 41 : 727–34.

[6] Sermondade N, Delarouzière V, Ravel C, et al. Characterization of a recurrent poor-quality embryo morphology phenotype and zygote transfer as a rescue strategy. Reprod Biomed Online 2012; 24 : 403–9.

[7] Polanski LT, Baumgarten MN, Quenby S, et al. What exactly do we mean by 'recurrent implantation failure'? A systematic review and opinion. Reprod Biomed Online 2014; 28 : 409–23.

[8] Coughlan C, Ledger W, Wang Q, et al. Recurrent implantation failure : definition and management. Reprod Biomed Online 2014; 28 : 14–38.

La transparence : comment exprimer les résultats de l'assistance médicale à la procréation ?

Chapitre 30

J. Belaisch-Allart

La transparence des résultats en assistance médicale à la procréation (AMP), bien qu'inéluctable avec l'évolution de la société, reste un sujet de controverse [1, 2]. La difficulté de cette transparence est qu'elle correspond à la publication de résultats complexes, les résultats d'un centre dépendants de multiples facteurs. L'âge de la patiente et le rang de tentative sont des facteurs pronostiques importants [3–5], l'indication de la prise en charge joue également un rôle majeur, les résultats varient aussi selon le nombre d'embryons transférés [6]. La transparence dite brute (tant de grossesses pour tant de tentatives) avec affichage public des résultats, centre par centre, suscite une certaine inquiétude. Pour pouvoir afficher de bons résultats, certains centres ne seraient-ils pas tentés de ne sélectionner que les cas favorables ? Les données mises en ligne en 2014 par l'Agence de la biomédecine (ABM), portant sur l'année 2012, démontrent que tous les centres ne prennent pas en charge les mêmes patientes, ainsi la proportion de femme de 38 ans et plus est en moyenne en France de 24,4 % mais varie de 7,1 à 48,1 % selon les centres. Or l'âge des femmes est, dans toute la littérature, l'un des premiers facteurs de succès [7]. La transparence est une arme à double tranchant, à manier avec précaution. Elle risque d'aboutir à l'inverse de l'effet qualité souhaité, en favorisant la sélection des couples pris en charge. Il est donc fondamental de mettre au point un indicateur qui permette de connaître la qualité des centres tout en éliminant l'effet clientèle.

Les résultats de l'assistance médicale à la procréation : les taux de grossesses

Les résultats de l'AMP, c'est-à-dire les taux de grossesses obtenus, s'expriment par un rapport avec au dénominateur les grossesses et au numérateur les tentatives. Le premier problème est la définition de ces deux items. Le second et plus important problème est que ces résultats dépendent non seulement de la qualité d'un centre mais aussi des caractéristiques des couples pris en charge [1–5, 7]. Si en moyenne en France, une tentative FIV (fécondation *in vitro*) ou ICSI *(intracytoplasmic sperm injection)* sur cinq aboutit à une naissance (résultats ABM 2014 sur l'année 2012) (figure 30.1), ces résultats varient selon de multiples paramètres : âge de la femme, réserve ovarienne, poids, éventuel tabagisme, rang de la tentative, durée de l'infertilité et étiologie et … qualité des centres.

Le problème de définition des grossesses et des tentatives peut ou pourrait se résoudre. Si dans

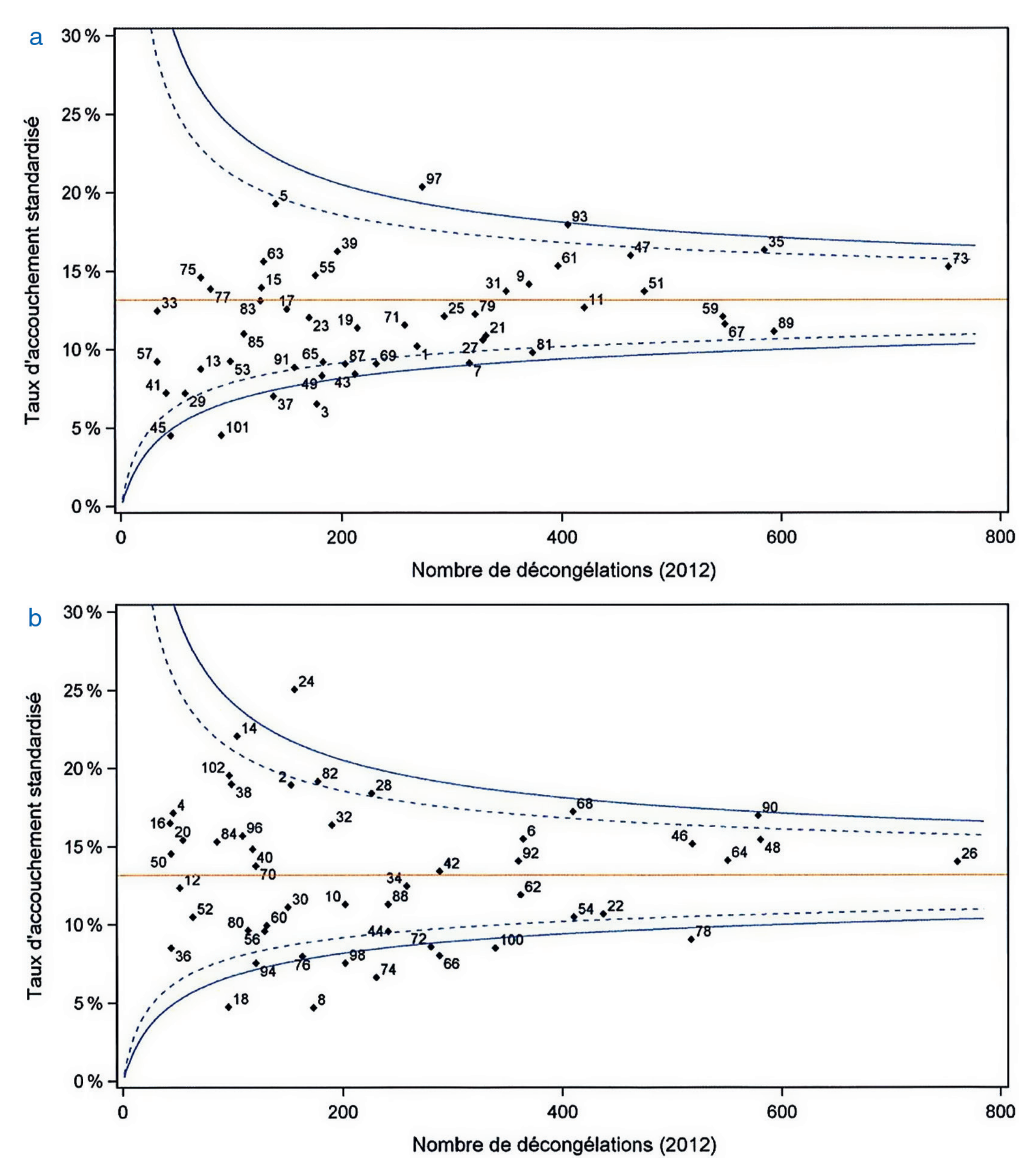


Figure 30.1 Taux standardisés d'accouchements, issus de transferts d'embryons congelés, rapportés au nombre de décongélations : test statistique d'écart à la moyenne nationale, méthode du *funnel plot* (a et b).
Ligne bleue : intervalle de confiance à 99 % ; ligne pointillée : intervalle de confiance à 95 % ; ligne rouge : taux national.
Source : résultats ABM 2014 sur l'année 2012. http://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/nationalresumefiv2012.pdf

les premiers temps de la FIV, un dosage d'hCG *(human chorionic gonadotropin)* positif suffisait pour définir une grossesse, un dosage supérieur à 1000 mU/mL est désormais requis en France pour définir les grossesses cliniques (bien que dans d'autres pays la grossesse clinique débute à 100 mU/mL). Un sac vu à l'échographie permet de parler de grossesse échographique. Tout

le problème est que tous les centres ne font pas la première échographie au même terme et que certains vont comptabiliser des grossesses que les autres n'auront pas vues. Le problème des grossesses extra-utérines (GEU) et des fausses couches n'est pas simple, si l'œuf est visible dans la trompe, c'est une grossesse échographique, dans le cas contraire, la GEU n'est pas comptabilisée. L'idéal est donc de parler de bébé né en bonne santé par tentative débutée [6], mais les 9 mois de grossesse, plus le temps de colliger les données des accouchements ne permettent de connaître les résultats de l'année N que l'année N+2. D'où la tentation de s'exprimer en grossesse évolutive, c'est-à-dire ayant dépassé 12 semaines d'aménorrhée. Ce taux permet une bonne appréciation, car les taux de fausses couches spontanées (FCS) tardives (après 12 semaines d'aménorrhée) sont très faibles. Les grossesses prises en compte peuvent être soit uniquement les grossesses issues de transferts d'embryons frais soit toutes les grossesses issues de la même tentative qu'elles proviennent d'embryons frais ou d'embryons congelés [8]. De la même façon au dénominateur, les tentatives peuvent être définies par tous les cycles commencés (y compris ceux que l'on interrompt pour réponse ovarienne insuffisante ou plus rarement excessive) ou par les ponctions ou par les transferts d'embryons. Les arguments utilisés pour défendre tel ou tel indicateur sont en général de bonne qualité, ce qui ajoute à la confusion : si un centre pratique beaucoup de tentatives en congelant tous les embryons, il lui paraît plus logique d'exprimer ses résultats par transferts ou de regrouper les résultats des transferts d'embryons frais et congelés.

Quels que soient les items retenus, le rapport obtenu sera un taux brut, or ce taux est fonction des caractéristiques des couples pris en charge, au premier rang desquels l'âge de la femme. Régulièrement des palmarès sont publiés par la presse prenant en compte ces résultats bruts, palmarès qui certes font vendre mais dont il n'est pas évident qu'ils soient bénéfiques pour les couples… tant ils poussent à l'hypersélection des patientes (ne prendre en charge que les « bons cas », les femmes les plus jeunes et répondant bien à la stimulation de l'ovulation). Il faudrait disposer d'un bon indicateur, pour comparer les centres avant d'afficher les résultats, or la population sélectionnée idéale permettant la comparaison entre les centres n'est pas aisée à cerner (les femmes jeunes, à bonne réponse ovarienne, dans leurs premières tentatives… ou au contraire les cas défavorables). Il n'y a pas que l'âge des femmes qui intervient, le rang de la tentative, le poids, le tabagisme et la qualité de la réponse ovarienne (qui peut être liée à l'âge, mais il existe des mauvaises répondeuses jeunes) jouent également sur les résultats d'un centre [5]. Les données FIVNAT 2004 rapportent aussi qu'il existe une relation entre le nombre d'ovocytes recueillis et le taux de grossesses en FIV, or le nombre d'ovocytes obtenus est fonction du centre (par le biais du choix du type de stimulation de l'ovulation) mais aussi de la réponse ovarienne, donc de la femme [9]. Nous avions démontré à Sèvres que, à âge égal, les taux de succès sont significativement différents selon que le nombre d'ovocytes recueillis est supérieur ou inférieur à cinq (donc que la femme soit bonne ou mauvaise répondeuse), nombre lui-même fonction de la réserve ovarienne, et que la sélection des patientes à réserve ovarienne satisfaisante permettrait d'afficher des taux de succès satisfaisants [10].

Il est également démontré que les meilleurs taux de succès s'observent dans les pays comme le Danemark qui ont le plus fort taux d'AMP par millions d'habitants, ce qui est habituellement interprété par le fait que des femmes peu infertiles rapidement prises en AMP (bons cas ?) sont plus facilement enceintes que des femmes ayant une véritable infertilité [2]. On ne peut pas nier que les résultats d'un centre soient fonction des patientes prises en charge, même si la qualité du centre intervient également.

La transparence idéale existe-t-elle ?

Si la transparence des résultats en AMP est sollicitée par la majorité des professionnels, tous souhaitent qu'elle fasse appel à des critères permettant une comparaison équitable [11]. Cette présentation idéale des résultats reste à définir. Elle nécessite une analyse fine des données prenant en compte, certes, les taux de grossesses par ponction et transfert, mais également les politiques du centre en termes de recrutement des patientes, d'annulations de cycles et de congélation embryonnaire ; il faudrait mettre au point un indicateur représentant fidèlement la qualité de chaque centre. Depuis

plus de 10 ans, les acteurs de l'AMP réfléchissent à cet indicateur sans arriver à se mettre d'accord. La qualité se mesure-t-elle sur les résultats obtenus dans les bons cas (cas faciles, ces couples obtiendraient une grossesse dans tous les centres) ou au contraire sur les résultats obtenus dans les mauvais cas (la qualité se mesure dans la difficulté) ? Pourquoi ne pas retenir les premières tentatives des femmes de moins de 38 ans, à ovulation normale, stérilité tubaire ou ICSI, ce que proposent la majorité des fivistes ? Les épidémiologistes rétorquent que pour des centres moyens de 500 ponctions/an, les effectifs retenus seraient trop faibles et que la variabilité des résultats et leurs écarts types ne permettraient plus aucune comparaison. La littérature actuelle sur ce sujet est pauvre. Le plus souvent, l'indicateur principal fait appel au taux de naissance vivante unique par tentative initiée [3, 4, 12], prenant en considération les naissances liées à la congélation embryonnaire [13]. Il apparaît difficile de résumer toute une activité par un seul paramètre et la détermination d'indicateurs semble plus souhaitable [8].

De nombreux indicateurs complémentaires ont été proposés : le nombre des tentatives réalisées dans le centre, la proportion de femmes de 40 ans et plus acceptées (reflet de la tolérance ?), la proportion de FIV et d'ICSI (est-il vraiment mieux de faire moins d'ICSI ?), le nombre d'embryons transférés (reflet de la politique du centre mais aussi de l'âge des candidates ou de la qualité des embryons), la proportion de femmes avec embryons congelés, le taux de grossesses après congélation d'embryon. Chacun choisit l'item qui avantage son centre [2].

Pouly et Larue ont proposé cinq items pour une comparaison équitable des centres :

- ne pas prendre en compte les patientes « âgées » que certains centres refusent et d'autres acceptent donc exclure toutes patientes de plus de 37 ans ;
- ne pas prendre en compte les patientes mises trop vite en FIV (comme c'est visiblement le cas au Danemark qui fait 3 fois plus de FIV pour les femmes de moins de 30 ans que nous) donc exclure les femmes de moins de 30 ans ;
- ne pas prendre en compte des tentatives de rang élevé qui sont récusées par certains centres et acceptées par d'autres et donc ne prendre que les tentatives de rang 1 (ou 1 et 2) ;
- prendre en compte les déprogrammations dont le taux d'un centre à l'autre va de 3 à 25 % ;
- tenir compte de la politique de transfert et donc rendre un résultat corrigé d'un facteur « bébé par embryon transféré ».

De la sorte, il serait possible d'arriver à un seul chiffre par centre ce qui, écrivent Pouly et Larue, « fera le bonheur des médias et qui évitera les palabres sur la spécificité de chacun ». Ce chiffre serait un taux d'accouchements corrigé par cycle commencé pour des patientes standardisées [2].

D'autres indicateurs de qualité ont été évoqués : l'accueil ; le délai de prise en charge ; l'organisation ; la proportion de refus de rendez-vous ou de refus de prise en charge ; l'attente en consultation, aux dosages hormonaux ou aux échographies [1]. Tout cela est bien difficile à prendre en compte et pourtant pourrait faire partie de la transparence !

Résultats publiés en France : l'Agence de la biomédecine

La loi de bioéthique de 2011 a prévu que l'Agence de la biomédecine (ABM) publie régulièrement les résultats des activités des centres d'AMP en tenant compte des caractéristiques de leur patientèle et en particulier de l'âge des femmes. Pour la première fois un rapport de ce type a été mis en ligne le 19 juillet 2013 sur le site Internet de l'ABM (http://www.agence-biomedecine.fr/Evaluation-des-resultats-des). Il présente l'évaluation des résultats des centres d'AMP en France en 2010 (FIV/ICSI intraconjugales), en tenant compte des caractéristiques de leur patientèle et du nombre de tentatives effectuées, en se basant sur les rapports d'activité, envoyés chaque année par les centres à l'ABM. Depuis cette publication princeps, l'ABM a mis en ligne les résultats des années 2011 et 2012.

L'objectif général est de comparer les résultats des centres à la moyenne nationale. L'objectif de l'analyse statistique est de mettre en place un test qui permet de comparer le nombre d'accouchements observés dans les centres au nombre attendu sous l'hypothèse de la moyenne nationale, en tenant compte des caractéristiques des patientèles dans les centres. La méthode consiste donc à

comparer non pas les taux bruts d'accouchements par ponction mais des taux standardisés, sur les caractéristiques de la patientèle. Les disparités des centres vis-à-vis des patientèles (âge, nombre d'ovocytes recueillis, nombre d'embryons obtenus) sont ainsi prises en compte. Quatre indicateurs ont été testés :

- le taux d'accouchements, issus d'embryons frais, rapporté au nombre de ponctions ;
- le taux d'accouchements, issus d'embryons frais ou congelés, rapporté au nombre de ponctions ;
- le taux d'accouchements, issus d'embryons congelés, rapporté au nombre de décongélations ;
- la fréquence des accouchements multiples.

Les résultats sont présentés sous forme graphique : le *funnel plot* (diagramme en entonnoir) représente l'intervalle de confiance autour de la moyenne nationale en fonction du volume d'activité. Pour permettre la lisibilité, chaque indicateur fait l'objet de deux graphiques, les 104 centres (en 2010) ayant été répartis au hasard sur deux *funnel plots*. Les centres dont les résultats standardisés se trouvent en dehors de l'intervalle de confiance s'écartent significativement de la moyenne nationale. À l'intérieur de l'intervalle de confiance, les centres ne peuvent être distingués ni de la moyenne nationale, ni les uns vis-à-vis des autres. Cette méthode ne permet pas de comparer les centres entre eux puisque l'intervalle de confiance du taux d'accouchements de chaque centre n'est pas disponible. Ce n'est pas un palmarès mais une évaluation de la qualité des centres en essayant de voir quels seraient leurs résultats à patientèle identique pour gommer les caractéristiques des femmes prises en charge, le but étant d'aider les centres dont les résultats sont nettement en dessous de la moyenne et non de les comparer. Le taux d'accouchements, issus d'embryons frais ou congelés, rapporté au nombre de ponctions de l'année, est destiné à estimer le taux d'accouchements « cumulés » issus d'une ponction. Ces résultats sont destinés aux professionnels mais d'accès libre sur le site de l'ABM, donc peuvent être consultés par tous, un numéro renvoyant en clair à chaque centre. Jusqu'à 2015, ces chiffres ont été extraits des rapports agrégés que les centres d'AMP ont l'obligation d'envoyer chaque année à l'ABM. Mais depuis 2014, nous avons l'obligation d'envoyer nos données fiche par fiche et c'est à partir de données individuelles que seront calculés les taux, ce qui sera un plus juste reflet de la réalité. L'ABM a tenté ainsi de faire une évaluation adaptée de la patientèle de chaque centre et même si cette présentation n'est pas parfaite et doit clairement être améliorée, elle paraît cependant à la plupart des professionnels préférable aux palmarès bruts des journalistes et à ce titre elle mérite d'être connue des médecins pour qu'ils puissent l'expliquer à leurs patients.

La transparence est inévitable, il faut rester conscient de la tentation pour certains de l'utiliser comme un argument commercial et veiller à cette dérive mais bien gérée, elle est un facteur de qualité.

Note du coordonnateur

De nombreux pays, dont les USA, rendent accessibles et aisément lisibles (à l'opposé de l'Agence de Biomédecine en France) leurs résultats via internet. Par exemple, tous les résultats des 440 cliniques américaines classées par âge des patients sont accessibles sur le site du CDC Atlanta Assisted Reproductive Technology (ART) (www.cdc.gov/art/). Les résultats globaux sont d'ailleurs supérieurs aux nôtres. La transparence ne serait-elle pas un facteur d'émulation vers le mieux faire ?

Références

[1] Belaisch-Allart J. Transparence des résultats en assistance médicale à la procréation : oui, mais…. Gynecol Obstet Fertil 2006 ; 34 : 430–1.

[2] Larue L, Pouly JL. Transparence des résultats en assistance médicale à la procréation. Gynecol Obstet Fertil 2006 ; 34 : 770–3.

[3] Baker V, Luke B, Brown M, et al. Multivariate analysis of factors affecting probability of pregnancy and live birth with in vitro fertilization : an analysis of the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System. Fertil Steril 2010 ; 94 : 1410–6.

[4] Gunby J, Bissonnette F, Librach C, Cowan L, Group of the Canadian Fertility and Andrology Society. Assisted reproductive technologies in Canada : 2007 results from the Canadian ART register. Fertil Steril 2011 ; 95 : 542–7.

[5] Cabry-Goubet R, Lourdel E, Brzakowski M, et al. Facteurs prédictifs de grossesses en cas de transfert de deux embryons au cours de tentatives « Top Quality ». Gynecol Obstet 2013 ; 41 : 168–72.

[6] Barnhart K. Live birth is the correct outcome for clinical trials evaluating therapy for the infertile couple. Fertil Steril 2014 ; 101 : 1205–8.

[7] Basille C, Hesters L, Bourrier MC, et al. La stabilité des résultats en fécondation in vitro est-elle possible ? J Gynecol Obstet Biol Reprod 2009 ; 38 : 312–20.
[8] Tiitinen A, Hyden-Granskog C, Gissier M. The value of cryopreservation on cumulative pregnancy rates per single oocyte retrieval should not be forgotten. Hum Reprod 2004 ; 19 : 2439–41.
[9] FIVNAT. Dossier FIVNAT, brochure Organon ; édition 2004 ; 2004.
[10] Belaisch-Allart J, Kulski O, Mayenga JM, et al. Transparence des résultats en AMP : Oui… mais quelle transparence ? L'âge de la femme n'est pas le seul paramètre à prendre en compte. Poster 15es Journées de la Fédération française d'étude de la reproduction (FFER). 6–8 octobre 2010. Paris.
[11] Cabry-Goubet R, Boulard V, Lourdel E, et al. Comment présenter les résultats des centres d'AMP : enquête auprès des professionnels des centres français et application aux résultats du centre d'AMP du CHU d'Amiens. Gynecol Obstet Fertil 2012 ; 40 : 24–30.
[12] Heijnen EM, Macklon NS, Fauser BC. What is the most relevant standard of success in assisted reproduction ? The next step to improving outcomes of IVF : consider the whole treatment. Hum Reprod 2004 ; 19 : 1936–8.
[13] Land JA, Evers JL. What is the most relevant standard of success in AR ? Defining outcome in ART : a Gordian knot of safety, efficacy and quality. Hum Reprod 2004 ; 19 : 1046–8.

Chapitre 31

Les enfants de l'assistance médicale à la procréation : des enfants « comme les autres »

S. Epelboin

On estime à plus de six millions le nombre d'enfants nés après assistance médicale à la procréation (AMP) dans le monde en 2015. En 1978, Louise Brown était la première enfant née par fécondation *in vitro* (FIV) parmi les 128 000 000 enfants venus au monde cette année-là. Les bilans mondiaux font état d'une progression persistante du nombre de tentatives et de naissances annuelles, ainsi le bilan pour l'année 2011, présenté en 2015, indique-t-il 241 535 naissances répertoriées, soit une augmentation de 7,4 % par rapport à l'année précédente, et 284 159 enfants, ce qui témoigne de la fréquence encore élevée des grossesses multiples (l'estimation intégrant les pays qui ne participent pas ou incomplètement aux registres pris en compte est d'environ 430 000 enfants dans l'année). En France, près de 3 % des naissances contemporaines sont consécutives à une AMP, ce qui signifie qu'environ un enfant né sur quarante a été conçu par AMP. Parallèlement, l'activité de cryopréservation et transfert embryonnaire différé est en croissance.

Au total, d'un fait divers qui souleva en son temps bien des passions, sans cesse renouvelées à chaque avancée technologique, les naissances par AMP sont devenues une réalité sociale. Modes de conception connus et admis du grand public, les procréations assistées sont cependant encore à l'origine de représentations fantasmatiques, de l'ordre paradoxal de l'excès, des dérives ou des manques, et les enfants qui en sont conçus encore bien souvent considérés comme « hors norme ». Les médias relaient l'information en misant sur le sensationnel de pratiques contestables mais marginales, d'où l'intérêt fondamental des études scientifiques menées sur de larges cohortes cas-témoins d'enfants issus des techniques, portant sur leur santé néonatale, les malformations, leur développement.

Durant la période préconceptionnelle, l'embryon subit des influences à la fois extrinsèques et intrinsèques qui peuvent altérer son développement, avec de possibles conséquences en pré- mais aussi post-natal ou encore à plus long terme.

Les études sur la santé néonatale des enfants sont nombreuses, mais la démarche de suivi des enfants, pour utile qu'elle soit, est plus délicate, impliquant une intrusion dans la vie des familles, car rendant nécessaire la collaboration des parents qui acceptent de s'enrôler dans des enquêtes par questionnaires, ou de soumettre leurs enfants à des examens itératifs, alors qu'ils pourraient souhaiter oublier le parcours d'infertilité qui a été le leur et ne pas particulariser leurs enfants. Par ailleurs, les études sont rarement en mesure de faire la part, dans l'étiologie des problématiques retrouvées, entre :

- les facteurs prédisposants liés à l'infertilité parentale, les conséquences de la stimulation hormonale ou les techniques elles-mêmes, les trois étant souvent intriqués (FIV classique ou ICSI, préparation spermatique, manipulation des ovocytes, milieux de culture embryonnaire, culture prolongée au stade de blastocyste, éclosion assistée, congélation embryonnaire…) ;

- et les pathologies consécutives à la grossesse (grossesses multiples, existence d'un jumeau dit « évanescent » en début de grossesse ultérieurement unique, prématurité, retard de croissance, complication de l'accouchement).

Il faut également évoquer les variations méthodologiques rencontrées dans les études de suivi d'enfants, rendant difficile leur lisibilité, qu'elles soient prospectives ou rétrospectives, telles que la fiabilité de la population témoin, les critères d'appariement, l'importance et l'exhaustivité des cohortes, le pourcentage et la signification des perdus de vue, le type de tests utilisés et la classification des anomalies.

Faire la part des choses est ardu, mais l'identification des facteurs de risque et la lecture critique des travaux dans ce domaine répondent à la nécessité de disposer d'une information claire à délivrer aux couples candidats à l'AMP.

Nous envisagerons successivement les données médicales connues sur la santé et le développement des enfants, puis celles, plus socio-anthropologiques ou psychologiques, dominées par les questions de filiation concernant les enfants issus de conception ayant fait appel à un tiers donneur.

Données médicales

Données périnatales

Les grossesses après AMP présentent de façon générale plus de complications que les grossesses naturelles, avec un risque augmenté de prématurité, de petit poids de naissance et de mortalité périnatale. Ce sur-risque a longtemps été attribué aux seules grossesses multiples qui engendrent par elles-mêmes plus de risques néonataux [1]. Cependant, plusieurs études ont mis en évidence un taux de prématurité et d'hypotrophie 2 fois supérieur chez les singletons nés après FIV comparés à une conception naturelle. Il semblerait pour certains que le risque soit dû à la prise en charge en AMP et non à l'infertilité *per se* [2]. Pour d'autres, cette augmentation des risques néonéonataux serait liée à l'infertilité des parents [3].

Pinborg [4] isole en 2005 les données du registre danois d'AMP concernant 642 « survivants » d'un « *vanishing co-twin* », ou jumeau évanescent,et constate une augmentation significative de prématurité, et de petit poids de naissance comparés aux enfants « d'emblée » uniques. Dans la cohorte des enfants uniques, 10,4 % étaient issus d'une grossesse gémellaire débutante, ce qui est spécifique des grossesses post-AMP et transfert multiple.

Aucune étude ne relève de différence significative dans les complications observées selon la technique initiale FIV et ICSI ou l'origine des spermatozoïdes utilisés.

Technique de congélation embryonnaire

Bien que la technique visant à différer l'évolution naturelle de l'embryon par la congélation ait pu faire craindre une prise de risque quant à son développement ultérieur, les connaissances actuelles sont rassurantes. Plusieurs études récentes cas-témoins sur de larges cohortes d'enfants concordent pour indiquer que la cryopréservation embryonnaire n'altère pas les paramètres de santé à la naissance [5–7]. Après cryopréservation et transfert ultérieur, il n'existe aucune différence concernant la mortalité périnatale, le taux de prématurité est identique dans quatre études et moindre dans deux, le pourcentage de petit poids de naissance est moindre : ces données sont extrêmement rassurantes. Néanmoins, les études les plus récentes soulignent un poids moyen des enfants à la naissance plus élevé de plus de 100 g comparé à celui d'enfants nés de transferts frais, ainsi qu'un pourcentage d'enfants macrosomes au-delà du 90e et 95e percentile significativement plus élevé :la signification, le mécanisme et les conséquences potentielles de ces données ne sont pas encore très clairs [8]. La réponse à ces questions est pourtant fondamentale dans le contexte actuel où les transferts différés par congélation embryonnaire prennent une place grandissante au sein des techniques, encouragés par les bons résultats de la congélation rapide ou vitrification, motivés notamment par :

- le bénéfice d'éviter les hyperstimulations ovariennes menaçant les femmes en cas de réponse forte et transfert immédiat ;
- la meilleure implantation embryonnaire dans un cycle sans hyperstimulation.

Impact des grossesses multiples sur la survenue de complications périnatales

L'AMP a eu, et a encore, une responsabilité importante dans la genèse de grossesses multiples. À titre d'exemple, elle représentait 0,7 % des grossesses aux États-Unis entre 1997 et 1999, 0,3 % des grossesses uniques mais 11,5 % des grossesses gémellaires, et jusqu'à 47 % des grossesses multiples de haut rang (> 2) [9].

La prise de conscience a bien sûr d'abord concerné les grossesses de haut rang – triples et plus – et ses corollaires pour les enfants : prématurité souvent sévère, retard de croissance, débuts de vie en néonatalogie ou réanimation, handicaps séquellaires. Dans certains pays néanmoins, au nom du rendement, de la charge financière imputée aux couples réalisant une AMP, le transfert facile de trois embryons ou plus est encore pratique courante (et ce dans des pays où les infrastructures permettant la prise en charge obstétricale et néonatale des naissances multiples ne sont pas toujours optimales). En Europe, si le nombre d'embryons transférés a drastiquement diminué, ce n'est qu'au début des années 2000 que la réflexion a porté sur les conséquences des grossesses gémellaires. Certains pays ont inscrit dans leur loi ou leurs guides de bonne pratique le transfert sélectif d'embryon unique chez les couples dont la femme est jeune et le pronostic optimiste [10]. Dans les pays où le nombre d'embryons transférés n'est pas réglementairement encadré, la prise de risque de grossesse gémellaire par le transfert de deux embryons subsiste, dans le souci de maintenir les résultats, et sous la fréquente pression des couples dont les arguments dominants sont la crainte de perte de chances en cas de transfert mono-embryonnaire, le désir de rattrapage du temps perdu, la considération de la grossesse gémellaire comme banale (1/80 dans la population générale), dans la méconnaissance de l'augmentation des complications pour la mère et l'enfant.

L'augmentation des complications est constante dans toutes les études et identique pour les enfants nés de FIV et d'ICSI. De multiples études concordent depuis plus de 10 ans pour estimer que prématurité, hypotrophie, mortalité périnatale concernent 2 à 5 fois plus fréquemment les jumeaux que les enfants uniques [1]. Les complications des grossesses multiples représentent donc les complications majeures des naissances après AMP, écrasant le rôle de la technique comme le montre l'étude de la santé néonatale des jumeaux dans la cohorte danoise, comparable dans deux populations, 3438 jumeaux IVF/ICSI et 10 362 conçus naturellement [11].

Malformations et anomalies congénitales

C'est dans ce domaine sensible que les variations méthodologiques des études revêtent la plus grande importance. Outre celles évoquées plus haut, d'autres, plus spécifiques, vont générer des conclusions contradictoires : mode de recueil (dossier pédiatrique ou questionnaire parental), classification de la pathologie, date de recueil (post-natal immédiat ou suivi évolutif), prise en compte ou non des malformations ou anomalies congénitales détectées en anténatal et ayant conduit à une interruption médicale de grossesse.

Tous ces éléments doivent faire l'objet de lectures critiques des travaux existants. Notamment la classification des malformations peut porter à débat : à titre d'exemple, une des premières études sur les malformations après ICSI publiée par l'équipe pionnière belge retrouvait sur un total de 76 % des enfants nés de 1991 à 1994 un taux de 3,3 % de malformations majeures et un taux de 20 % de malformations mineures [12]. Après reclassification par des généticiens australiens, ces taux passaient respectivement à 7,4 % et 0,7 % [13].

La problématique particulière de l'ICSI est doublement liée à l'indication (infertilité de l'homme) et à la technique de micro-injection de l'ovule. Les risques malformatifs sont potentiellement liés à l'infertilité masculine en raison du lien entre l'importance des perturbations spermatiques et la fréquence d'anomalies chromosomiques chez l'homme oligospermique, multipliée jusqu'à un facteur 10. Cependant, la population d'hommes ayant recours à l'ICSI est hétérogène, selon que la pathologie spermatique est d'origine endocrine, génétique, toxique, infectieuse ou autre.

Les premières études ont néanmoins rapporté un taux identique de malformations chez les enfants conçus par FIV ou ICSI par rapport aux enfants nés après conception naturelle [1, 14].

Par la suite, des données contradictoires ont été publiées, la plupart des études postérieures allant dans le sens d'une augmentation des taux de malformations congénitales par rapport à la population générale, sans différence entre la FIV et l'ICSI ou la congélation embryonnaire [15, 16]. Deux études sont citées à titre d'exemple :

- l'étude référente de Hansen de 2002 est une étude de trois registres australiens : celui des naissances dans la population générale, celui des naissances après AMP et celui des malformations majeures (MM) chez les enfants nés de 1993 à 1997 [16, 17] ; 8,6 % des enfants ICSI et 9 % des enfants FIV présentent à 1 an une MM contre 4,2 % chez ceux de la population générale, les résultats étant identiques chez les enfants uniques. Après appariement sur l'âge maternel et la parité, la mise en cause des techniques n'était pas exclue ;
- l'étude-questionnaire de Belva (2007) est intéressante car elle décrit le suivi à 8 ans d'enfants uniques nés après 32 SA, 150 conçus en ICSI et 147 conçus naturellement et recrutés en milieu scolaire [18]. Le taux de MM est de 10,6 % chez les enfants ICSI, 3,3 % chez les témoins, avec une majoration de 5,3 % à 1 an à 10,6 % à 8 ans dans le groupe ICSI, ce qui démontre l'importance du facteur temps dans l'évaluation réelle des pathologies malformatives.

Tous les types de malformations sont concernés, mais sont plus particulièrement observées des anomalies touchant le système cardiovasculaire, urogénital ou musculo-squelettique [19].

Plusieurs études portent sur le risque qui serait spécifiquement lié à l'origine spermatique, quand l'ICSI est pratiquée avec des spermatozoïdes prélevés dans l'épididyme ou le testicule du père, et ne retrouvent pas d'augmentation du taux de malformations majeures [1], sauf en ce qui concerne l'hypospadias [20].

Risques épigénétiques

Des données rétrospectives ont suggéré que l'AMP était associée à une fréquence plus accrue de maladies touchant les gènes soumis à empreinte parentale, comme les syndromes de Beckwith-Wiedman, Willi-Prader ou de Silver-Russel, ou le diabète néonatal [21]. Ces études fondées sur des registres de patients affectés, à partir de questionnaires envoyés à des familles d'enfants atteints, indiquent la difficulté à relier les épimutations recherchées et l'AMP. L'ensemble des travaux rapportent pour le syndrome de Beckwith-Wiedman un risque de 4 à 9 fois plus élevé chez les enfants conçus par AMP par rapport à la population générale. Cette association entre AMP et épigenèse n'est pas surprenante quand on connaît les intrications entre le cycle de l'empreinte parentale et les différentes phases du développement. La rareté de ces pathologies les rend néanmoins heureusement très minoritaires.

Développement staturo-pondéral et psychomoteur

L'excellente méta-analyse de Ludwig [3] constitue, notamment, une revue de l'ensemble des études avec cas-contrôle sur le développement des enfants issus de l'ICSI.

Développement staturo-pondéral

Toutes les études vont dans le sens d'un développement staturo-pondéral normal chez les enfants nés après AMP, avec des données brutes anthropométriques ou cardiovasculaires identiques à la population d'enfants conçus naturellement, et ce jusqu'à la puberté [14, 15]. Bien que les données soient encore en nombre limité, la puberté semble se dérouler sans particularité, à la fois chez les filles et les garçons. Il a cependant été rapporté un âge osseux significativement différent de l'âge chronologique chez les filles pubères conçues par AMP par rapport aux jeunes filles nées naturellement, associé à un taux plasmatique de LH *(luteinizing hormone)* plus élevé, sans différence de l'âge de la puberté et de l'âge de la ménarche entre les deux groupes.

Développement psychomoteur

Des données publiées à partir de 9255 enfants vont dans le sens d'un risque accru d'infirmité motrice cérébrale chez les enfants conçus par AMP, mais ce risque disparaît lorsque l'on ajuste les résultats aux grossesses multiples et à la prématurité [22]. Les observations alarmantes n'ont pas été confirmées par la suite et il semble que les développements tant comportemental (étudié jusqu'à l'âge de 8 ans) que mental (étudié jusqu'à l'âge de 5 ans) ne diffèrent pas chez ces enfants

de ceux des enfants naturels [3]. De même, les tests de QI à l'âge de 5 ans ne sont pas différents entre les enfants conçus par FIV, ICSI ou conception naturelle [23]. On a même extrapolé de façon erronée et abusive à partir de données issues du suivi d'une cohorte de centre, qui indiquaient qu'un tiers des enfants en âge scolaire avaient une année d'avance, simple indicateur de la motivation parentale [24]. Les données les plus récentes de performances scolaires ont été présentées au congrès européen de fertilité humaine (ESHRE) en juin 2015 par Pedersen. Par croisement des registres danois d'AMP et du registre médical national, ont été étudiés les niveaux scolaires de 10 429 jeunes gens de 15 à 16 ans passant une évaluation nationale, dont 2838 enfants uniques et 1930 jumeaux issus d'AMP, et 5661 de conception naturelle. Les résultats du test étaient identiques entre adolescents uniques issus ou non d'AMP, et singletons et jumeaux issus d'AMP.

Pathologies médicales et chirurgicales

Aucune des études ne trouve de problème de santé spécifique à 5 ans ni d'augmentation de problèmes de vision ou d'audition [3]. Quelques études détaillent cependant un surcroît d'hospitalisations de la petite enfance. Aucune pathologie chronique n'émerge en dehors d'une augmentation de problèmes cardiométaboliques rapportés dans une étude de 2014 portant sur de petits effectifs d'enfants nés à Amsterdam après traitement d'infertilité parentale : 34 inductions de l'ovulation (IO), 54 inséminations intra-utérines (IIU), 28 FIV ou ICSI comparés à 2364 enfants de conception non médicalisée, lors d'un bilan de santé à 5–6 ans [25]. Les auteurs constatent un profil cardiométabolique moins bon dans les trois groupes d'enfants de parents infertiles, avec élévation modérée du taux de glycémie (IO : + 0,4 mmol/L, intervalle de confiance ou IC95 % : 0,2–0,6 ; FIV-ICSI : 0,2 mmol/L, IC95 % : 0,0–0,5), de la tension artérielle systolique (IO, IIU, FIV, ICSI : + 0,8 mmHg, IC95 % : – 0,2–1,8), et diastolique (+ 1,4 mmHg, IC95 % : 0,6–2,3). L'augmentation de la tension artérielle (HTA) est retrouvée par un autre groupe néerlandais de Groningen sur des effectifs comparables d'enfants de 4 ans, avec l'intérêt d'en rapporter une élévation significative après analyse multivariée chez les enfants nés de FIV après hyperstimulation ovarienne (63), mise en cause dans le mécanisme de survenue de l'HTA, puisque non retrouvée chez les enfants de mères infertiles minimalement stimulées (52) ou enceintes sans traitement d'hyperstimulation (79) [26]. Ces données concordantes demandent à être étayées par de plus larges cohortes.

Sur le plan chirurgical, seule est notée une fréquence accrue d'interventions chez les garçons jusqu'à 5 ans, à prédominance génito-urinaires.

Au total, l'ensemble des conclusions sur la santé des enfants nés après AMP a été synthétisé dans le travail du *Sixth Evian Annual Reproduction (EVAR) Workshop Group Meeting* regroupant épidémiologistes, médecins de la reproduction, biologistes et généticiens (2011) au niveau européen [27]. Il est confirmé que les enfants nés d'AMP ont un plus petit poids de naissance que les témoins, mais que leur croissance et leur développement cognitif sont sans particularités. Le risque absolu de désordres épigénétiques est de moins de 1 %. Aucun lien direct avec les techniques d'AMP ne peut être établi. Le groupe de travail a retenu comme cause des différences de paramètres de santé des enfants le fait que les femmes ayant recours à l'AMP sont plus âgées et susceptibles de produire des ovocytes anormaux à l'origine de l'augmentation des pathologies retenues.

Cancer

À ce jour, il n'y a pas de risque global formellement identifié, mais des études contradictoires [28].

Une méta-analyse effectuée en 2007 avait exclu l'association entre fréquence élevée de cancer chez l'enfant et la FIV ou l'ICSI [3]. Une étude française a rapporté en 2012 une incidence accrue de rétinoblastome (× 5) chez les enfants conçus par FIV et/ou ICSI par rapport aux enfants nés naturellement, posant la question de son origine épigénétique [29]. Une étude anglaise de 2013 (106 013 enfants) suggère, elle, un risque élevé d'hépatoblastome et rhabdomyosarcome. Une étude suédoise rassemblant 26 692 enfants nés entre 1982 et 2005 a également observé un risque modérément augmenté de cancer chez les

enfants conçus par FIV par rapport à la population générale (odds ratio ou OR : 1,42). Il s'agissait principalement de cancers hématologiques, des tumeurs de l'œil ou du système nerveux central ou encore d'histiocytose de Langerhans [30]. Une étude danoise de 2013 (120 000 enfants) constate un risque augmenté de tumeurs du système nerveux central (SNC) et leucémies attribué à la prise maternelle de progestérone. La cohorte des pays nordiques publiée en 2014 (91 796 enfants) rapporte l'absence d'augmentation du taux global de cancer de l'enfant, mais une élévation spécifique des tumeurs d'origine épithéliale et du SNC, leucémies et lymphomes hodgkiniens.

La plus large étude récente publiée est la méta-analyse de Hargreave (2013) qui synthétise les données de 25 suivis de cohortes et études cas-témoins impliquant des enfants nés de mère infertiles. Ceux-ci avaient un risque accru pour tous les cancers (risque relatif ou RR = 1,33 ; IC95 % = 1,08–1,63) et pour les cancers hématologiques (RR = 1,59 ; IC95 % = 1,32–1,91), ceux du SNC (RR = 1,88 ; IC95 % = 1,02–3,46), les tumeurs solides (RR = 2,19 ; IC95 % = 1,26–3,80), les leucémies (RR 1,65 ; IC95 % = 1,35–2,01), les neuroblastomes (RR = 4,04 ; IC95 % = 1,24–13,18) et les rétinoblastomes (RR = 1,62 ; IC95 % = 1,12–2,35) en association avec le traitement de fertilité maternelle. Néanmoins, les auteurs concluent à l'impossibilité de relier cette augmentation aux techniques plus qu'à l'infertilité parentale [31].

Les données les plus récentes portant sur de grosses études de cohortes, non publiées au moment de cette rédaction, ont été présentées au congrès européen de fertilité (ESHRE) en juin 2015. À partir du croisement des registres de naissance et du cancer norvégiens, Reigstad a analysé les données comparées de 25 782 enfants issus d'AMP et 1 602 876 enfants de conception naturelle entre 1984 et 2011, avec enregistrements respectifs de 49 et 4414 cancers. Les résultats témoignent d'une augmentation modérée du risque global (OR = 1,21 ; IC95 % = 0,9–1,63), portant essentiellement, là encore, sur les leucémies (OR = 1,67 ; IC95 % = 1,02–2,73), les lymphomes (OR = 1,79 ; IC95 % = 0,66–4,90) et la maladie de Hodgkin (OR = 3,63 ; IC95 % = 1,12–11,72).

À l'opposé, Spaan, pour le centre médical néerlandais Erasmus et l'Institut néerlandais du cancer, présentait une étude nationale rassurante comparant trois cohortes d'enfants nés entre le début des années 1980 et 2001, soit de mères ayant conçu en AMP (N = 29 248), soit de mères ayant des problèmes d'infertilité mais ayant conçu sans traitement (N = 10 950), soit de mères sans problème de fertilité (N = 10 758). Après un suivi moyen de 16 ans, fort conséquent, la conclusion a été à l'absence de différence de survenue d'un cancer de l'enfant entre les trois populations.

Ces conclusions divergentes appellent à la vigilance et la poursuite de suivis de cohortes ainsi que recherche de modèles explicatifs.

Les enfants de l'AMP : vécu du mode de conception et place dans la filiation

Les enfants nés d'AMP le sont souvent à la suite d'un parcours semé d'obstacles faisant s'alterner espoirs et déceptions et porteront à titres divers le poids de l'infertilité parentale. Il existe beaucoup d'interrogations, mais peu de littérature scientifique sur la condition d'enfants nés après perte d'un aîné *in utero*, fausses couches à répétition, interruptions de grossesses antérieures ayant émaillé la vie de leurs parents. Les considérations sur le bien-être de vie menacé chez des enfants conçus par AMP de parents malades, âgés, en situation précaire, après une longue attente, investis d'une mission particulière de pansement d'épisodes de vie parentale douloureux, de dette de vie, relèvent plus de projections privées et de conjectures que d'évaluations sérieuses. La place de l'enfant intégrera le roman familial comme dans diverses circonstances de naissance marquées par des événements autres que la stérilité parentale et la conception médicalisée, ici, ne l'oublions pas, par le désir. Hors don de gamètes, la révélation à l'enfant de son mode de conception est l'attitude déclarée de façon majoritaire par les parents [32]. Aucune publication portant sur de larges effectifs n'explore le vécu à long terme des enfants nés de la FIV hors don, ni le retentissement de la révélation du mode de conception.

Dans ce contexte, nous évoquerons plus quelques questions soulevées au fil des trois dernières décennies que nous ne fournirons de réponse rigoureuse.

L'**incidence accrue de grossesses multiples** générées par la procréation assistée a mis en

exergue la dyade attraction–répulsion de l'environnement familial vis-à-vis de naissances doubles ou triples générant des schémas familiaux marqués par la concomitance de la naissance de plusieurs enfants, et parfois la prématurité et le handicap. Hors ces complications, il y a peu de spécificité de l'AMP dans la vie des jumeaux majoritairement dizygotes (faux jumeaux). Les grossesses triples, elles, ont posé deux problèmes essentiels :

- celui d'un schéma familial rarissime (1 naissance sur 10 000 hors FIV), donc de la signature et de l'exposition au monde extrafamilial de l'infertilité parentale et du mode de conception des enfants ;
- celui de la réduction embryonnaire précoce, souvent proposée ou demandée, toujours vécue douloureusement par les futurs parents, sans qu'il existe de connaissances disponibles quant à l'impact de l'élimination médicale précoce d'un embryon sur la vie des enfants survivants.

L'enfant de la congélation embryonnaire

Pour l'ensemble des enfants nés après congélation au stade embryonnaire, une minorité de parents s'interrogent sur le rapport ultérieur au froid de leur enfant, choisissent des prénoms du Nord, risquent des plaisanteries sur le thème de leur résistance aux rhumes ou leur don pour les sports d'hiver. Parmi les parents qui ont obtenu une grossesse différée par transfert d'embryons issus de la même cohorte que ceux transférés au moment de la tentative d'AMP ayant donné naissance à un premier enfant, certains se posent des questions sur la césure créée entre conception et mise au monde, sur des compositions familiales inédites de simultanéité de conception suivies de naissances différées, relayées à présent par leurs enfants devenus grands. Ainsi, dans notre expérience clinique récente, à deux décennies de distance de la conception, des adolescents ou jeunes adultes se sont-ils interrogés sur le choix dont ils ont fait l'objet, au stade embryonnaire, de ne pas avoir été transférés de première intention. Là encore, les questionnements, peu fréquents, sont souvent concomitants avec d'autres problèmes de l'adolescence qui les mettent en exergue.

La singularité d'être né après don de gamètes ou embryons

Les conceptions avec tiers donneur, répondant en France aux exigences réglementaires de la gratuité et de l'anonymat, actualisent la réflexion sur la définition de la parenté, la prédominance ou non du biologique sur le social [33]. Les techniques d'AMP avec don de gamètes introduisent de nouvelles subtilités (ou complications) dans le questionnement sur les origines. L'amalgame est souvent fait entre liens génétique et généalogique, c'est-à-dire déterminisme biologique pour l'un et partage de l'histoire et du lignage pour le second. Le concept génétique, parents et enfants partageant une même ascendance, est souvent confondu avec le souhait de ressemblance de l'enfant au parent. La ressemblance physique peut évoquer l'identification de l'enfant à un aïeul comme à un parent. L'appariement dans le don de gamètes ou d'embryons vise essentiellement à ce que la dissemblance ne soit pas repérable [34].

Dans le don de sperme, la position des professionnels est de conseiller aux parents de révéler à l'enfant son mode de conception. Il y a peu de connaissances sur le nombre de couples concernés qui ont informé l'enfant, quelles que soient leurs déclarations d'intention. La quête de la connaissance du parent donneur et biologique portée par quelques adolescents ou jeunes adultes nés de don de sperme et réclamant la levée de l'anonymat reste marginale, elle n'est pas exprimée comme la quête d'un autre père, mais comme un droit à la connaissance de ses origines.

Dans les naissances après don d'ovules, plus récentes, la question de la levée de l'anonymat n'est pas actuellement abordée, et peu d'études interrogent les mères sur la révélation du mode de conception à l'enfant. L'expérience des suivis de grossesses après don suggère de façon surprenante l'occultation de la part de l'ovule « étranger » par la mère, son appropriation quasi banale de l'enfant. La naissance signe sans équivoque la filiation, tant sur le plans physique de l'acte d'accouchement que sur le plan juridique qui définit la maternité par la mise au monde dans l'immense majorité des systèmes.

Les naissances après don et accueil d'embryons

L'accueil d'embryons concerne des couples présentant une double infertilité et bénéficiant du don d'embryons surnuméraires cédés par d'autres couples ayant eu recours à l'AMP, et le plus souvent parents, estimant leur famille accomplie. La technique dissociant la conception par autrui de la grossesse, l'accouchement et l'éducation de l'enfant, interfère-t-elle dans l'acquisition de la parentalité? Comment l'enfant issu de l'accueil d'embryons va-t-il trouver sa place au sein de la chaîne des générations? De quelle généalogie pourra-t-il se réclamer? Issu d'un double projet, celui des donneurs puis celui des receveurs, sera-t-il doublement pourvu dès sa naissance, ou si particulier qu'il ne pourra se figurer [35] ?

Les questions de filiation concernent tout autant les enfants nés du don que ceux du couple donneur, qui partagent une histoire généalogique. L'intérêt des enfants issus du choix embryonnaire réalisé le jour de leur propre transfert intra-utérin est-il de savoir l'existence, voire de connaître leurs (même pas demi) frères ou sœurs biologiques? Sera-t-il enrichissant ou perturbant pour eux de penser qu'ils auraient pu être l'autre, le congelé puis le donné, élevé dans un autre milieu familial?

À la naissance de l'enfant, les parents sont libres de révéler ou non à l'enfant le secret de sa propre conception et de leur non-conception. La révélation de leur mode de conception aux enfants du don d'embryons peut faire émerger un imaginaire concernant la famille originelle, les frères ou sœurs biologiques. Quelles que soient leur qualité de vie et leur compréhension de l'histoire de leurs parents sociaux, comment ne pas envisager la possibilité d'interprétations dévalorisantes, car mis en attente, congelés, désinvestis, puis donnés? Force est de constater le vide de nos connaissances quant à l'impact de «l'environnement de la conception», puis de la césure entre conception et grossesse sur la qualité de vie humaine ultérieure.

Il n'y a pas en la matière de prêt-à-penser, mais la donnée récente de l'extension des familles recomposées banalise la notion de parentés multiples s'invitant dans les structures familiales traditionnelles, et pourrait servir de base de réflexion anticipée à la question de la levée du secret dans le contexte du don et accueil d'embryons. À titre d'exemple, nous pouvons citer d'autres modèles. Ainsi, la législation canadienne comporte les éléments suivants : pas de protocole obligeant à détruire les embryons, droit aux origines après adoption, programmes nationaux d'adoption des embryons. Le concept est celui *du having a pair* : les enfants du couple donneur et ceux adoptés *in utero*, frères et sœurs de gènes, sont considérés socialement comme «cousins» et relanceront la généalogie. Le modèle des *snowflakes*, décrit par Collard, est celui de la mise en relation des familles qui se rencontrent, sont susceptibles de partir en vacances ensemble avec les ex-embryons jumeaux d'étuve, l'interdit d'inceste étant garanti par l'information des enfants [36]. Ce modèle est aussi celui d'une possibilité de parenté de familles recomposées par la germanité et non la recomposition parentale.

Avec les techniques ont successivement émergé de nouveaux modes de conception des individus qui, à leur tour, ont généré une mutation radicale du concept de parenté [33]. L'anthropologie, la sociologie et la psychanalyse nous ont appris à considérer que la filiation d'un individu était un subtil mélange de l'inné (capital génétique) et de l'acquis (capital éducationnel) [37]. La filiation *in vitro* concerne néanmoins des enfants ardemment souhaités dans ces contextes variés, qui innoveront leur place dans la généalogie familiale [38].

Conclusion

Les enfants nés de l'AMP forment désormais une population mondiale conséquente.

Une des difficultés de l'évaluation de la santé des enfants issus de l'AMP réside dans le fait qu'il est délicat d'étudier un facteur isolément et que de nombreux facteurs confondants peuvent fausser les conclusions. Plus de trente ans après la première naissance, on sait que la FIV et l'ICSI génèrent une augmentation des pathologies néonatales – prématurité, hypotrophie y compris – quoique de façon

modérée chez les enfants uniques, et il faut retenir la responsabilité majeure des naissances multiples dans les pathologies et leurs séquelles sur la santé ultérieure des enfants.

La congélation embryonnaire n'est pas à l'origine de perturbation de la santé néonatale hormis une interrogation non résolue sur la fréquence accrue d'enfants de poids plus élevé retrouvée dans toutes les séries.

Concernant la santé, le développement et les performances scolaires, en dehors d'une inquiétude sur une légère différence sur le plan cardiométabolique, les enfants nés de FIV ou d'ICSI ne présentent pas de particularités. L'origine des spermatozoïdes n'est facteur d'aucune spécificité.

L'analyse du taux de malformations dans la littérature est extrêmement délicate en raison de variations méthodologiques importantes. Il semble cependant que les études concordent pour décrire un taux de malformations majeures augmenté, principalement lié à des malformations urogénitales et aux cardiopathies. Il existe également un excès de syndromes génétiques rares, secondaires à des phénomènes épigénétiques, comme le syndrome de Beckwith-Wiedman et le rétinoblastome, de risque absolu inférieur à 1 %. L'âge maternel ou le contexte d'infertilité sont les facteurs étiologiques retenus, les techniques elles-mêmes ne pouvant être incriminées en premier chef.

Les données concernant la puberté sont encore rares mais rassurantes, rien n'est par contre connu sur la fertilité de cette génération née de parents infertiles.

Les données concernant le cancer sont contradictoires et motivent la vigilance des suivis.

La poursuite des suivis de cohortes d'enfants semble nécessaire, mais justifie d'une attention particulière vis-à-vis du retentissement possible dans la vie des familles concernées.

Hors don, la connaissance du mode de conception assistée n'a fait l'objet d'aucune étude alarmante sur le vécu des enfants. Les questions de filiation issues des dons de gamètes et d'embryons sont intimement liées au mode de révélation du mode de conception et à analyser dans le contexte des liens familiaux.

Références

[1] Bonduelle M, Liebaers I, et al. Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999). Hum Reprod 2002 ; 17 : 671–94.

[2] Romundstad LB, Romundstad PR, et al. Effects of technology or maternal factors on perinatal outcome after assisted fertilisation : a population-based cohort study. Lancet 2008 ; 372 : 737–43.

[3] Ludwig AK, Sutcliffe AG, et al. Post-neonatal health and development of children born after assisted reproduction : a systematic review of controlled studies. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2006 ; 127 : 3–25.

[4] Pinborg A, et al. Consequences of vanishing twins in IVF/ICSI pregnancies. Hum Reprod 2005 ; 20 : 2821–9.

[5] Belva F, Henriet S, et al. Neonatal outcome of 937 children born after transfer of cryopreserved embryos obtained by ICSI and IVF and comparison with outcome data of fresh ICSI and IVF cycles. Hum Reprod 2008 ; 23 : 2227–38.

[6] Pelkonen S, Koivunen R, et al. Perinatal outcome of children born after frozen and fresh embryo transfer : the Finnish cohort study 1995-2006. Hum Reprod 2010 ; 25 : 914–23.

[7] Pinborg A, et al. Infant outcome of 957 singletons born after frozen embryo replacement : the Danish National Cohort Study 1995-2006. Fertil Steril 2010 ; 94 : 1320–7.

[8] Wennerholm UB, Henningsen AK, Romundstad LB, et al. Perinatal outcomes of children born after frozen-thawed embryo transfer : a Nordic cohort study from the CoNARTaS group. Hum Reprod 2013 ; 28 : 2545–53.

[9] Reynolds MA, Schieve LA, et al. Does insurance coverage decrease the risk for multiple births associated with assisted reproductive technology ? Fertil Steril 2003 ; 80 : 16–23.

[10] Karlström PO, Bergh C. Reducing the number of embryos transferred in Sweden-impact on delivery and multiple birth rates. Hum Reprod 2007 ; 22 : 2202–7.

[11] Pinborg A, Loft A, et al. Hospital care utilization of IVF/ICSI twins followed until 2–7 years of age : a controlled Danish national cohort study. Hum Reprod 2004 ; 19 : 2529–36.

[12] Bonduelle M, Legein J, et al. Prospective follow-up study of 423 children born after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1996 ; 11 : 1558–64.

[13] Kurinczuk JJ, Bower C. Birth defects in infants conceived by intracytoplasmic sperm injection : an alternative interpretation. BMJ 1997 ; 315 : 1260–5.

[14] Sutcliffe A, Taylor B, et al. Outcome in the second year of life after in-vitro fertilization by intracytoplasmic sperm injection : a UK case-control study. Lancet 2001 ; 357 : 2080–4.

[15] Bonduelle M, Wennerholm U, et al. A multi-centre cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, in vitro fertilization and natural conception. Hum Reprod 2005 ; 20 : 413–9.
[16] Hansen M, Kurinczuk J, et al. The risk of major birth defects after ICSI and IVF. N Eng J Med 2002 ; 346 : 727–30.
[17] Anthony S, Buitendjik SE, et al. Congenital malformations in 4224 children conceived after IVF. Hum Reprod 2002 ; 17 : 2089–95.
[18] Belva F, et al. Medical outcome of 8-year-old singleton ICSI children (born > or = 32 weeks' gestation) and a spontaneously conceived comparison group. Hum Reprod 2007 ; 22 : 506–15.
[19] Hansen M, Bower C, et al. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects--a systematic review. Hum Reprod 2005 ; 20 : 328–38.
[20] Fedders J, et al. Malformation rate and sex ratio in 412 children conceived with epidymal or testicular sperm. Hum Reprod 2007 ; 22 : 1080–5.
[21] Gicquel C, Gaston V, et al. In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCN1OT gene. Am J Hum Genet 2003 ; 72 : 1338–41.
[22] Hvidtjørn D, Grove J, et al. Multiplicity and early gestational age contribute to an increased risk of cerebral palsy from assisted conception : a population-based cohort study. Hum Reprod 2010 ; 25 : 2115–23.
[23] Leslie GI, Gibson FL, et al. Children conceived using ICSI do not have an increased risk of delayed mental development at 5 years of age. Hum Reprod 2003 ; 18 : 2067–72.
[24] Epelboin S, Merlet F, Bulwa S, De Medeiros N. Les enfants de la FIV et de l'ICSI. Mises à jour en Gynécologie-Obstétrique. In : Paris : Vigot ; 2000. p. 185–219.
[25] Pontesilli M, Painter RC, et al. Subfertility and assisted reproduction techniques are associated with poorer cardiometabolic profiles in childhood. Reprod Biomed Online 2015 ; 30 : 258–67.
[26] Seggers J, Haadsma M, et al. Is ovarian hyperstimulation associated with higher blood pressure in 4-year-old IVF offspring ? Part I : multivariable regression analysis. Hum Reprod 2014 ; 29 : 502–9.
[27] Fauser BC, Devroey P, et al. Evian Annual Reproduction (EVAR) Workshop Group 2011 Health outcomes of children born after IVF/ICSI : a review of current expert opinion and literature. Reprod Biomed Online 2014 ; 28 : 162–82.
[28] Epelboin S, Patrat C, Luton D. Devenir des enfants nés de l'assistance médicale à la procréation. La Revue du Praticien. 2014. no 64.
[29] Foix-L'Hélias L, Aerts I, et al. Are children born after infertility treatment at increased risk of retinoblastoma ? Hum Reprod 2012 ; 27 : 2186–92.
[30] Källén B, Finnström O, et al. Cancer risk in children and young adults conceived by in vitro fertilization. Pediatrics 2010 ; 126 : 270–6.
[31] Hargreave M, Jensen A, et al. Fertility treatment and childhood cancer risk : a systematic meta-analysis. Fertil Steril 2013 ; 100 : 150–61.
[32] Epelboin S. Naissances après AMP : un secret de famille ? Reproduction Humaine et Hormones 2000 ; 5 : 516–27 XIII.
[33] Godelier M. Métamorphoses de la parenté. Paris : Fayard ; 2004.
[34] Brunet L. Procréations médicalement assistées et catégories « ethno-raciales » : l'enjeu de la ressemblance. Les catégories ethno-raciales à l'ère des biotechnologies. In : Canselier G, Desmoulins S, editors. 2001. p. 135–54 Paris.
[35] Epelboin S. L'accueil d'embryons : aspects cliniques et mise en perspective anthropologique. Médecine de la Reproduction. Gynécologie Endocrinologie 2008 ; 10–1.
[36] Collard C, Zonaben F. Parenté sans sexualité ; le paradigme occidental en question. L'Homme. 2013. no 206.
[37] Guidetti M, Lallemand S, Morel MF. Enfances d'ailleurs, d'hier et d'aujourd'hui. Paris : Armand Colin ; 1997.
[38] Epelboin S. Filiations in vitro. In : L'autre, le semblable, le différent. Actes du colloque GYPSY. 2013. p. 15–32. XIII.

Les grossesses après assistance médicale à la procréation

Chapitre 32

B. Hédon, A. Torre, R. Rayssiguier, S. Deutsch-Bringer

Les grossesses issues de l'assistance médicale à la procréation (AMP) représentent aujourd'hui en France 3 à 4 % des grossesses. Leur fréquence les fait maintenant entrer dans une certaine routine et leur suivi est similaire à celui des autres grossesses. Le fait qu'elles aient été fortement désirées, souvent pendant longtemps, et parfois obtenues chez des couples dont l'âge ou les causes de l'infécondité ne leur laissent guère d'espoir de pouvoir avoir d'autres grossesses, leur confère cependant un caractère de préciosité dont on est obligé de tenir compte, notamment lorsqu'il s'agit de décider des examens du diagnostic prénatal et du mode d'accouchement. Les polémiques qui ont pu avoir lieu autour des grossesses multiples, du risque périnatal inacceptable qu'elles comportent et de la nécessité éthiquement discutable et psychologiquement traumatisante du recours à la réduction embryonnaire sont aujourd'hui moins prégnantes. En effet, les nouvelles stratégies du transfert embryonnaire, avec le recours plus fréquent au transfert électif d'un seul embryon, ainsi que la maîtrise de la congélation embryonnaire grâce à la vitrification qui permet d'avoir recours à des transferts différés, ont grandement contribué à rendre les grossesses multiples (au-delà de gémellaire) exceptionnelles dans notre pays et notre partie du monde. Il faut cependant continuer à être vigilants pour que les choix sociaux de prise en charge n'amènent pas à prendre des risques inconsidérés qui pourraient nous ramener vers un passé heureusement révolu.

Grossesses de l'assistance médicale à la procréation

Grossesses « biochimiques »

Il s'agit d'implantations embryonnaires transitoires, qui s'accompagnent d'une certaine sécrétion d'hCG *(human chorionic gonadotropin)*, mais qui n'atteignent pas le stade du développement clinique : pas d'aménorrhée significative, pas de visualisation d'un sac gestationnel à l'échographie et, bien entendu, pas d'augmentation du volume utérin ni d'apparition des autres signes cliniques de grossesse. Le diagnostic d'une grossesse biochimique est toujours *a posteriori*. La première positivation, précoce, du dosage de la β-hCG ne se confirme pas aux examens suivants, le dosage quantitatif reste à un taux faible, habituellement inférieur à 1000 mUI/mL, le doublement habituel du taux toutes les 48 à 72 h ne se produit pas et la patiente finit par avoir une métrorragie semblable à des règles.

Une grossesse biochimique est donc un avortement spontané ultraprécoce. Certains utilisent le terme de « préclinique ». Tous les stades du développement embryonnaire ou fœtal sont soumis à un risque d'interruption du développement, et ce risque est plus important lors des stades initiaux que lors des stades plus avancés. C'est pourquoi une grossesse biochimique n'est pas comparable à un avortement spontané dit « du premier trimestre » et ne justifie pas d'exploration complémentaire autre que celles déjà réalisées dans le cadre du

bilan d'infécondité ou du bilan pré-AMP. De même, en cas de répétition des grossesses biochimiques, le bilan réalisé en cas d'avortements spontanés à répétition ne conduit en général à aucun diagnostic particulier.

Rien ne permet de dire que les grossesses biochimiques sont plus fréquentes après une AMP, bien que le diagnostic se pose principalement dans ces circonstances. En effet, le désir de faire le diagnostic précoce de la grossesse tant désirée conduit à faire un dosage de β-hCG le plus tôt possible, ce qui augmente d'autant le risque de détecter une simple élévation transitoire. Le consensus est de réaliser une première évaluation 13 jours après la ponction folliculaire, renouvelée 48 h plus tard. Ce délai met à l'abri d'avoir une fausse positivation liée à la demi-vie de l'hCG injectée pour le déclenchement de l'ovulation.

Le consensus est maintenant bien acquis : les grossesses biochimiques ne doivent pas être comptabilisées parmi les grossesses, et encore moins comme succès de l'AMP. Seules les grossesses qui atteignent un stade de développement qui permet de voir clairement le sac gestationnel à l'échographie peuvent être enregistrées. Idéalement, elles conduiront à la naissance d'un enfant vivant et en bonne santé, seul critère absolu du succès de l'AMP. Il y a cependant de bonnes raisons de considérer qu'une grossesse est évolutive lorsqu'elle dépasse le stade du premier trimestre.

Grossesses extra-utérines

Elles sont un peu un comble de la fécondation *in vitro* (FIV) ! En effet, tout le processus consiste à réaliser en dehors de l'organisme ce qui se produit normalement à l'intérieur de la trompe, en court-circuitant celle-ci, l'embryon étant transféré directement dans la cavité utérine. Le phénomène est cependant connu depuis longtemps. La toute première grossesse obtenue par Edwards et Steptoe, avant la naissance de Louise Brown, était une grossesse extra-utérine… [1].

Les grossesses extra-utérines sont probablement dues au transfert inopiné dans la trompe plutôt que dans la cavité utérine. Cela peut se produire en s'approchant du fond utérin, le cathéter de transfert prenant spontanément une orientation vers l'ostium utérinum jusqu'à se ficher à l'intérieur. Une autre explication possible pourrait être le flux du liquide qui accompagne l'embryon lors de son injection dans la cavité utérine. La réduction du volume injecté, qui doit être réduit à son plus strict minimum, a permis de diminuer la fréquence des grossesses extra-utérines.

Mais à côté de ce facteur « mécanique », il y a probablement d'autres facteurs favorisants parmi lesquels :

- le mauvais état tubaire ;
- la stimulation de l'ovulation : il semble qu'il y ait légèrement moins de grossesses extra-utérines après un transfert « congelé » réalisé en cycle spontané qu'après un transfert frais au cours du cycle qui a été stimulé [2] ;
- par contre, il n'y a pas de différence entre un embryon de 3 jours et un blastocyste de 5 jours [3].

L'AMP fait donc partie des facteurs de risque d'avoir une grossesse extra-utérine. C'est pourquoi en cas de début de grossesse, il est indiqué de faire une échographie précoce, dès la sixième semaine d'aménorrhée, afin de vérifier que le sac gestationnel est bien en situation intra-utérine. Du point de vue prévention, il est indiqué de faire les transferts embryonnaires au milieu de la cavité utérine, et non près du fond utérin, avec un minimum de liquide, une simple « bulle » qui puisse entraîner l'embryon en dehors du cathéter. La coagulation systématique de l'isthme ou de la portion interstitielle des trompes a pu être discutée. Mais outre le fait qu'il n'est pas démontré que cela diminuerait le risque de grossesse extra-utérine, la relative rareté de cette dernière (3 % des grossesses environ) ne le justifie pas, sauf indication autre liée à l'inflammation tubaire ou à la présence d'hydrosalpinx.

Avortements spontanés

Les avortements spontanés après AMP ne sont guère différents de ceux qui surviennent lors des grossesses « normales ». Leur fréquence est principalement en rapport avec les facteurs de risque de la patiente, et notamment son âge [4]. Ses modalités ne sont aussi guère différentes, mis à part le fait que le diagnostic échographique de non-évolutivité gravidique malgré l'absence de métrorragies est sans doute plus fréquent eu égard à la précocité des premières échographies après une AMP.

Un point particulier est celui des jumeaux dits « évanescents » [5]. C'est la pratique des échographies précoces qui a montré que le phénomène est assez fréquent, notamment après AMP et transfert embryonnaire multiple. Il s'agit de l'avortement spontané électif de l'un des embryons implantés dans la cavité utérine. Le phénomène peut être purement échographique avec la mise en évidence de débris intra-utérins pouvant correspondre à des restes embryonnaires, sans apparition de signes cliniques de menace gravidique. Dans ce cas, le plus souvent, ils se résorbent spontanément et ne deviennent plus visibles au bout de quelques jours ou semaines. Ils peuvent aussi persister jusqu'au terme.

Mais il peut aussi y avoir des signes cliniques d'accompagnement de menace d'avortement spontané tels que métrorragies et même contractions utérines. L'évolution vers un avortement spontané global n'est pas obligatoire et tout peut rentrer dans l'ordre et la grossesse évoluer favorablement pour l'embryon restant. Il y a cependant des publications qui font état de complications obstétricales plus fréquentes et notamment de ruptures prématurées des membranes, de naissances prématurées plus fréquentes et de petits poids [6, 7].

Grossesses évolutives

Les grossesses dites évolutives sont celles qui passent le cap du premier trimestre et qui, sauf complication obstétricale particulière, évolueront jusqu'à la naissance.

Apparemment, une fois la grossesse induite, il n'y a théoriquement aucune raison particulière pour qu'elles soient différentes des grossesses naturelles. Or, les études ont très vite montré qu'elles avaient statistiquement plus de complications, tant fœtales que maternelles. C'est ainsi qu'il y a plus de risques d'accouchement prématuré, de retard de croissance intra-utérin, de mort *in utero*, d'hypertension gravidique, etc. Ce sur-risque n'est pas en rapport avec la fréquence des grossesses gémellaires ou multiples, car il apparaît aussi dans les études qui se limitent aux grossesses monofœtales [8, 9]. Il est plus probablement associé à l'âge des patientes qui, du fait de leur infécondité antérieure, sont à un âge plus avancé que les autres. Il peut aussi être associé à la pathologie qui est la cause de l'infécondité, mais aussi aux particularités techniques des prises en charge de type AMP, bien que d'un point de vue théorique on ne s'explique pas bien les conséquences gravidiques qu'elles pourraient avoir. D'ailleurs, les études qui analysent les données gravidiques et périnatales selon la technique d'AMP employée ne mettent pas en évidence de différence. L'intervention d'un gamète de donneur, ovocyte ou spermatozoïde, ne modifie pas non plus ces données. Toutes comportent le même léger sur-risque par rapport à une grossesse spontanée [10, 11].

Grossesses multiples

La fréquence particulière des grossesses multiples après AMP a été la cause d'une vague de résultats néonataux défavorables qui a amené à une remise en cause profonde des techniques utilisées et notamment de la stratégie des transferts embryonnaires multiples. En 2015, l'épidémie de grossesses multiples est fort heureusement contrôlée, au moins dans notre pays et dans les pays européens voisins, mais il demeure encore un excès de grossesses gémellaires, jusqu'à 20 % des grossesses selon les centres. Sans devoir être considérée comme une grossesse pathologique, la grossesse gémellaire n'en est pas moins une grossesse à risque particulier et nécessite une prise en charge attentive et adaptée dans un centre obstétrical qui en a l'expérience et qui a la capacité d'accueil pédiatrique néonatal. Leur principale complication est l'accouchement prématuré et, comme pour les grossesses évolutives monofœtales, et probablement pour les mêmes raisons, tous les risques gravidiques sont augmentés par comparaison aux grossesses spontanées de même nature [12].

Provoquées par l'implantation d'embryons différents (transferts embryonnaires multiples), les grossesses gémellaires issues de l'AMP sont en général bi-choriales bi-amniotiques, comportant moins de risque de complications que les grossesses gémellaires monochoriales. Mais le type monochorial est aussi possible et non exceptionnel après AMP et, dans ce cas, la grossesse doit être prise en charge de façon adaptée aux risques fœtaux particuliers à ce type de grossesse.

Quant aux grossesses multiples, au-delà de gémellaires, tout doit être fait pour les éviter. Les techniques d'aujourd'hui permettent d'éviter de prendre le moindre risque et de ne plus jamais faire

de transfert embryonnaire de trois embryons ou plus comme cela a été pratiqué dans les premières années de l'AMP. Les seules grossesses multiples qui surviennent encore sont provoquées par les stimulations de l'ovulation sans AMP ou par les techniques d'AMP qui ne comportent pas de possibilité de contrôle strict du nombre d'embryons. C'est le cas de l'insémination.

En cas de grossesse triple, et à plus forte raison si la grossesse est même au-delà de trois, il est recommandé de procéder à une réduction embryonnaire. Les études concordent pour démontrer que la réduction embryonnaire permet de diminuer significativement la fréquence et surtout la gravité de la prématurité, ainsi que les conséquences néonatales parfois extrêmement dramatiques qu'elle peut entraîner.

La réduction embryonnaire, le plus souvent jusqu'à obtenir une grossesse gémellaire (mais la réduction à un diminue encore plus le risque néonatal), se pratique le plus tôt possible, avant la fin de premier trimestre, dès qu'il est possible de distinguer l'évolutivité embryonnaire. Il y a bien entendu un risque immédiat d'avortement spontané global, lié au geste invasif pratiqué. Ces grossesses ont aussi un risque plus élevé que les autres de complications gravidiques et d'accouchement prématuré.

Suivi des grossesses après assistance médicale à la procréation

Début de la grossesse

La principale particularité de la prise en charge initiale d'une grossesse issue de l'AMP est celle de l'indication d'une échographie précoce, dès la 6e ou au plus tard la 7e semaine d'aménorrhée (soit 4 semaines environ après le déclenchement de l'ovulation, le prélèvement folliculaire ou le transfert embryonnaire). Cette échographie précoce a pour objectif de localiser le sac gestationnel, de vérifier l'évolutivité gravidique et de déterminer le caractère multiple ou non de la grossesse. Elle n'a pas pour vertu de déterminer l'âge gestationnel qui est mieux connu grâce aux dates que par le calcul de la machine !

Certaines équipes font faire des dosages quantitatifs répétés de β-hCG plasmatique. En effet, l'évolution théorique des sécrétions de cette hormone par le trophoblaste est le doublement toutes les 48 à 72 heures. Outre que cette pratique est anxiogène pour la patiente, elle ne modifie pas la primauté qui revient au diagnostic échographique. Il faut cependant admettre que la période de 2 semaines environ qui sépare le diagnostic de la grossesse grâce à un premier test sanguin de celle de l'échographie rassurante est longue pour la patiente, d'autant qu'elle succède aux 2 semaines d'incertitude vis-à-vis de l'implantation embryonnaire, avant que le premier dosage de β-hCG puisse être réalisé.

Il faut cependant faire au moins deux dosages successifs quand le premier ne donne pas un chiffre clair de positivité (ou de négativité) ou qu'il y a des signes d'ordre pathologique (métrorragies).

Diagnostic prénatal

Le risque d'anomalie génétique et le risque malformatif des grossesses après AMP sont peut-être augmentés par rapport aux grossesses non AMP. Les études donnent des résultats encore incertains, mais le grand nombre d'études et surtout la rigueur méthodologique des études les plus récentes semblent bien confirmer un léger surcroît de risque. Il peut être en rapport avec la pathologie qui a provoqué l'infécondité, notamment dans les cas d'infécondité de cause masculine. Il n'est cependant pas exclu qu'il soit en rapport aussi avec la technique de l'AMP, notamment pour les anomalies de l'empreinte génomique [13–15].

Malgré cela, le diagnostic prénatal des grossesses après AMP n'est pas différent de celui des grossesses spontanées. Il comporte les mêmes propositions de réaliser trois échographies (12e, 22e, 32e semaine d'aménorrhée gravidique), ainsi que la détermination des marqueurs du premier trimestre qui permettent de calculer le risque « intégré » de grossesse trisomique. Ce calcul permet de limiter la fréquence du recours à l'amniocentèse chez les patientes dont l'âge est le plus avancé. La place particulière du diagnostic prénatal génétique non invasif par analyse des fragments d'ADN fœtal dans le sang maternel n'est pas encore à ce jour bien déterminée. Mais, dans le contexte d'une grossesse après AMP, il faut réfléchir avec la patiente et son conjoint à la balance bénéfices/risques du recours éventuel au diagnostic prénatal

invasif, en raison de ses risques incompressibles de déclenchement d'un avortement spontané. En cas de grossesse particulièrement difficile à obtenir, qui risque d'être la seule et unique grossesse que la patiente aura la chance d'avoir, et en fonction de l'âge de la patiente, il est sans doute sensé d'accepter un risque fœtal supérieur à celui qu'on accepterait lors d'une grossesse «normale», en essayant de compenser par le recours à des échographies particulièrement attentives réalisées par des praticiens de référence.

La recommandation de prévention des anomalies de fermeture du tube neural par la prise systématique d'acide folique pendant les 3 mois qui précèdent la grossesse et tout le premier trimestre est particulièrement bien suivie en cas de recours à l'AMP, la prescription de l'acide folique accompagnant systématiquement les autres prescriptions de l'AMP.

Lors d'une grossesse obtenue après diagnostic pré-implantatoire (DPI), en fonction du diagnostic génétique réalisé sur l'embryon, il est parfois nécessaire de le vérifier par amniocentèse. Mais cela relève d'indications spécifiques.

Prise en charge psychologique

Les grossesses après AMP sont un événement heureux pour la patiente et son conjoint et ne nécessitent pas d'accompagnement psychologique particulier. Elles se déroulent habituellement dans une atmosphère sereine et confiante, d'autant plus que c'est la même équipe médicale, voire le même médecin qui suit la grossesse de la patiente qu'il a aidée à être enceinte. Il arrive cependant que l'excès du désir aboutisse à un état d'anxiété pathologique avec sur-interprétation du moindre symptôme et besoin permanent d'être rassuré. Ceci est un point d'appel pour mettre en place un suivi psychologique adapté, car ces symptômes au cours de la grossesse sont des facteurs de risque vis-à-vis de la dépression du post-partum ou des troubles de l'attachement maternel après la naissance.

Prévention de l'accouchement prématuré

C'est la principale complication à éviter, notamment en cas de grossesse multiple. Les grossesses FIV, pour les raisons déjà évoquées ci-dessus, sont soumises à un surcroît de risque d'accouchement prématuré. Il convient donc d'être particulièrement vigilant durant la période la plus à risque, entre 25 et 32 SA. L'échographie de la 22e semaine doit inclure systématiquement la mesure de la longueur cervicale et les recommandations d'usage doivent être faites à la patiente. Dans certains cas, en fonction de la nature du travail et de la personnalité de la patiente, un arrêt de travail devra être prescrit. L'indication de la corticothérapie de maturation fœtale n'est pas systématique. Elle répond aux mêmes critères de menace d'accouchement prématuré que les autres grossesses.

Naissance

Le taux de césariennes est particulièrement élevé en cas de grossesse après AMP et varie de 30 à plus de 70 % selon les centres.

Les causes sont multifactorielles : l'âge de la patiente, les complications gravidiques, la fréquence des grossesses gémellaires. On évoque souvent, mais il faut reconnaître que ce n'est pas une vraie indication, le caractère particulièrement «précieux» de la grossesse. Lorsqu'il s'agit de la naissance d'un enfant, quel que soit son mode de conception, cet argument est particulièrement peu recevable. Il n'en demeure pas moins que les patientes qui ont une grossesse issue de l'AMP ne seront probablement pas enclines à devenir de grandes multipares. Les conséquences de l'utérus cicatriciel sont donc moins importantes chez ces patientes, d'où une plus grande libéralité pour le recours à la césarienne.

Il n'en demeure pas moins que l'AMP, quelle qu'elle soit, ne peut constituer à elle seule l'indication du recours à la césarienne. Les indications obstétricales demeurent les seules qui doivent emporter la décision.

Conclusion

L'obtention d'une grossesse après tentative d'AMP est un événement heureux. La prise en charge médicale, adaptée et confiante, et sans excès, doit assurer la sécurité de la grossesse et de l'accouchement tout en en sauvegardant l'aspect humain et émotionnel.

Références

[1] Steptoe PC, Edwards RG. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. The Lancet 1976 ; 307 : 880–2.
[2] Londra L, Moreau C, Strobino D, et al. Ectopic pregnancy after in vitro fertilization : differences between fresh and frozen-thawed cycles. Fertil Steril 2015 ; 104 : 110–8.
[3] Smith LP, Oskowitz SP, Dodge LE, Hacker MR. Risk of ectopic pregnancy following day-5 embryo transfer compared with day-3 transfer. Reprod Biomed Online 2013 ; 27 : 407–13.
[4] Causio F, Fischetto R, Sarcina E, et al. Chromosome analysis of spontaneous abortions after in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2002 ; 105 : 44–8.
[5] Agard J, Baydoun H, Stadtmauer L, et al. Oehninger. Do assisted reproductive techniques increase vanishing twin syndrome ? Fertil Steril 2011 ; 95 : S18.
[6] Almog B, Levin I, Wagman I, et al. Adverse obstetric outcome for the vanishing twin syndrome. Reprod Biomed Online 2010 ; 20 : 256–60.
[7] Pinborg A, et al. Consequences of vanishing twins in IVF/ICSI pregnancies. Hum Reprod 2005 ; 20 : 2821–9.
[8] Dhont M, De Sutter P, Ruyssinck G, et al. Perinatal outcome of pregnancies after assisted reproduction : a case-control study. Am J Obstet Gynecol 1999 ; 181 : 688–95.
[9] Belva F, Henriet S, et al. Neonatal outcome of 937 children born after transfer of cryopreserved embryos obtained by ICSI and IVF and comparison with outcome data of fresh ICSI and IVF cycles. Hum Reprod 2008 ; 23 : 2227–38.
[10] Romundstad LB, Romundstad PR, et al. Effects of technology or maternal factors on perinatal outcome after assisted fertilisation : a population-based cohort study. Lancet 2008 ; 372 : 737–43.
[11] Bonduelle M, Liebaers I, et al. Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999). Hum Reprod 2002 ; 17 : 671–94.
[12] Geisler ME, O'Mahony A, Meaney S, et al. Obstetric and perinatal outcomes of twin pregnancies conceived following IVF/ICSI treatment compared with spontaneously conceived twin pregnancies. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2014 ; 181 : 78–83.
[13] Hansen M, Kurinczuk J, et al. The risk of major birth defects after ICSI and IVF. N Eng J Med 2002 ; 346 : 727–30.
[14] Anthony S, Buitendjik SE, et al. Congenital malformations in 4224 children conceived after IVF. Hum Reprod 2002 ; 17 : 2089–95.
[15] Hansen M, Bower C, et al. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects--a systematic review. Hum Reprod 2005 ; 20 : 328–38.

Préservation de la fertilité féminine

Chapitre 33

S. Duros, C. Vinolas, C. Sifer, M. Grynberg

L'amélioration de la prise en charge des maladies oncologiques a permis, au cours des dernières décennies, d'augmenter la survie et l'espérance de vie des enfants et jeunes adultes atteints de cancer. L'altération de la fonction gonadique et/ou utérine en rapport avec les différents traitements (chimiothérapie, radiothérapie, chirurgie) est susceptible d'impacter négativement la fertilité spontanée des patientes survivantes. Ainsi, la question de la préservation de la fertilité devient prépondérante dans le parcours personnalisé de soins, non seulement des patientes suivies en oncologie, mais d'une manière plus générale pour toute femme de moins de 40 ans, susceptible de recevoir un traitement (endométriose) qui pourrait altérer sa fertilité [1].

Un des enjeux majeur sera de tenter de prédire la fonction ovarienne et la fertilité à l'issue des traitements. Si l'âge, le statut folliculaire ovarien, le type et les doses de chimiothérapie permettent d'estimer ce risque, de nombreux facteurs encore indéterminés vont être mis en jeu. Ainsi, il est actuellement impossible de prédire avec certitude une fertilité pour une jeune femme devant recevoir un traitement gonadotoxique. Par ailleurs, la mise en différé des projets de grossesse pendant 2 à 5 ans va également contribuer à altérer la fertilité en raison de la perte folliculaire physiologique.

Les spécificités de la folliculogenèse rendent l'autoconservation des gamètes féminins plus complexe que chez l'homme. En effet, l'ovaire est le siège de follicules à différents stades de maturation [2]. La formation d'un follicule pré-ovulatoire, depuis la réserve de follicules primordiaux déterminée à la naissance, dure environ 6 mois. L'ovocyte mature ainsi produit est caractérisé par sa grande taille et sa forte concentration hydrique, le rendant fragile et difficile à congeler [3].

Ce sont principalement l'âge, le statut folliculaire ovarien, et la gonadotoxicité prévue des traitements qui vont conditionner la stratégie de préservation de la fertilité. La majorité des équipes s'accordent pour fixer une limite d'âge à 40 ans [4].

Indications

Oncologiques

Les derniers plans cancer font état de l'importance de référer toute patiente de moins de 40 ans, devant recevoir un traitement anticancéreux du type chimiothérapie et/ou radiothérapie, en consultation d'oncofertilité. Cela concerne principalement les cancers du sein, les hémopathies (leucémies aiguë, lymphomes), les cancers gynécologiques (ovaires, col de l'utérus, endomètre), les cancers colo-rectaux et les tumeurs solides de l'enfant (neuroblastomes, néphroblastomes, sarcomes).

Les différentes drogues couramment utilisées au cours de chimiothérapies anticancéreuses ont été classées en fonction de leur gonadotoxicité (tableau 33.1) [5].

La radiothérapie pelvienne peut entraîner des dommages plus ou moins irréversibles par toxicité ovarienne (atteinte des follicules primordiaux) pouvant conduire à une insuffisance ovarienne prématurée [6]. La toxicité utérine de la radiothérapie se manifeste par une fibrose radio-induite [7] (hypoperfusion utérine, atrophie endométriale et myométriale) à l'origine d'un sur-risque d'échecs d'implantation, de fausses couches précoces, de fausses couches tardives, de retards de croissance *in utero*, de morts fœtales *in utero* et d'accouchements prématurés.

Tableau 33.1 Agents cytotoxiques classés en fonction de leur gonadotoxicité [5].

Risque élevé	Risque moyen	Risque faible
Busulfan Chlorambucil Cyclophosphamide Ifosfamide Thiotepa Melphalan Dacarbazine Procarbazine	Doxorubicine Carboplatine Cisplatine	Vincristine Méthotrexate Bléomycine

Tableau 33.2 Principales indications de préservation de la fertilité dans les pathologies non oncologiques.

Indication	Pathologies non oncologiques
Chirurgicale	– Tumeurs ovariennes bénignes : • kystes dermoïdes récidivants • tératomes • endométriomes multiples, sévères, récidivants – Ovariectomie bilatérale : pelvipéritonite, abcès – Ovariectomie bilatérale préventive : mutation *BRCA1*, *BRAC2*
Médicale	– Insuffisance ovarienne génétique : • syndrome de Turner en mosaïque • mutation *FMR-1*, *FOXL2* (syndrome de blépharophimose), *GDF9*, *BMP15* • galactosémie congénitale – Insuffisance ovarienne auto-immune – Insuffisance ovarienne iatrogène : • immunosuppresseurs (agents alkylants++) : lupus érythémateux disséminé, maladie de Gougerot-Sjögren, granulomatose de Wegener, sclérodermie, périartérite noueuse, maladie de Behçet, vascularites auto-immunes • chimiothérapie forte dose/radiothérapie corps entier/greffe de moelle osseuse : maladies hématologiques bénignes (thalassémie, drépanocytose), maladies auto-immunes n'ayant pas répondu aux immunosuppresseurs – Insuffisance ovarienne idiopathique ?

Non oncologiques

La préservation de la fertilité peut également être proposée dans des pathologies non oncologiques, dont le traitement ou l'histoire naturelle peut conduire à une insuffisance ovarienne. Ainsi, les maladies de système, des pathologies gynécologiques bénignes ou génétiques peuvent désormais faire indiquer une préservation de la fertilité (tableau 33.2).

Par ailleurs, bien qu'encore interdite en France, la préservation de la fertilité pour raison sociétale émerge dans de nombreux pays industrialisés [8].

Consultation de préservation de la fertilité

Cette consultation se fait dans le cadre d'une consultation pluridisciplinaire impliquant médecins et biologistes de la reproduction, psychologues. Elle intervient souvent immédiatement après l'annonce du cancer et la décision de la réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP). Idéalement, elle se déroule avant tout traitement gonadotoxique.

Les objectifs sont multiples :

- information sur la gonadotoxicité des traitements et les éventuelles conséquences sur la fertilité;
- information de la patiente sur les possibilités de préservation de la fertilité après évaluation du statut folliculaire ovarien : compte folliculaire antral, dosage de l'AMH *(anti-mullerian hormone)* sérique (figure 33.1);
- information sur les techniques alternatives d'accès à la maternité : don d'ovocytes, adoption;
- discussion sur les méthodes contraceptives adaptées à la pathologie.

Différentes techniques de préservation de la fertilité

Stimulation ovarienne pour vitrification ovocytaire ou embryonnaire

La stimulation ovarienne en vue d'un recueil d'ovocytes maturés *in vivo* constitue actuellement la technique de référence. Cette technique s'adresse à toute femme pubère ne présentant pas de contre-indication à la stimulation et dont

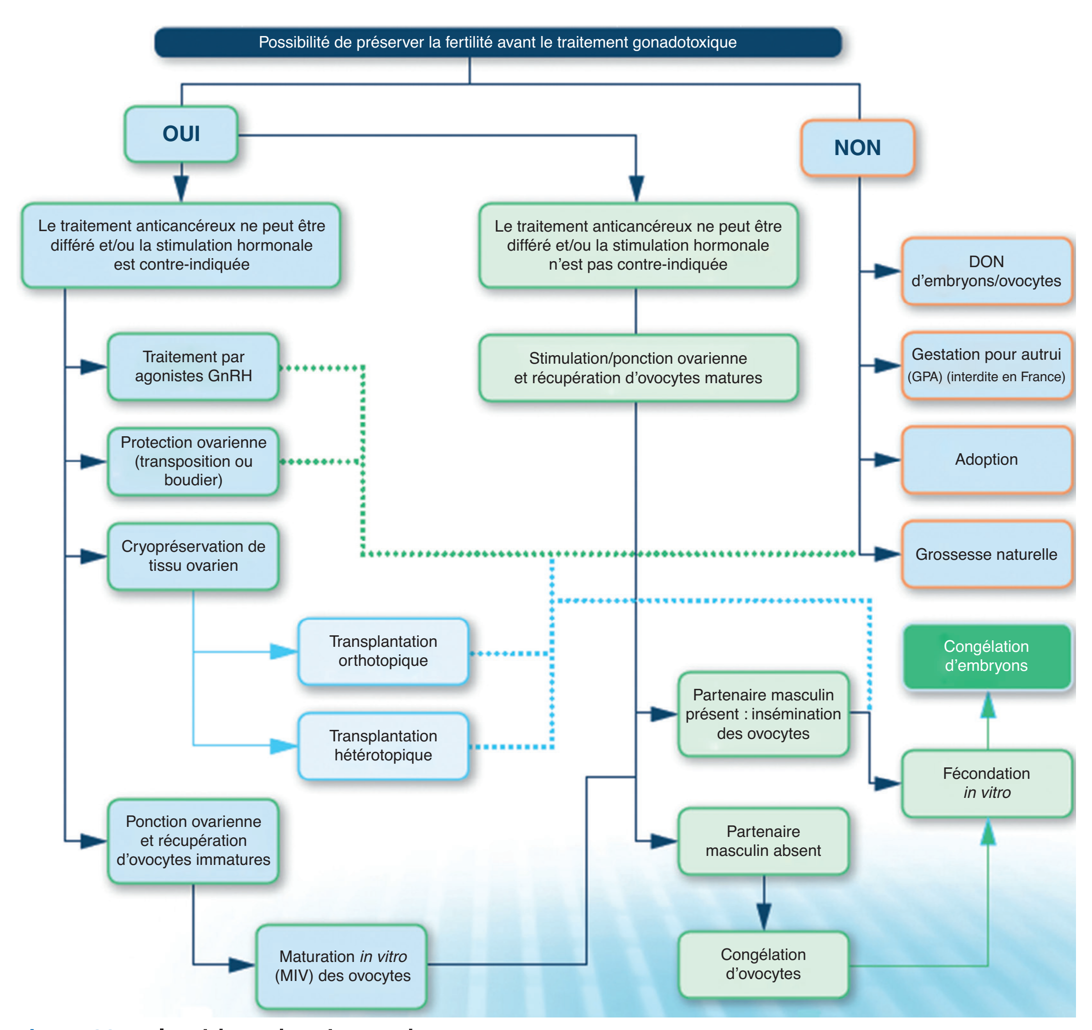


Figure 33.1 Algorithme de prise en charge.

le début du traitement gonadotoxique peut être différé d'environ 2 à 3 semaines, correspondant à la durée nécessaire à la stimulation [9]. Cette technique n'est pas utilisable lorsque l'urgence à débuter le traitement prime ou lorsque de la chimiothérapie a déjà été débutée [10]. Le principe est de stimuler des follicules antraux par de la FSH *(follicle-stimulating hormone)* exogène pendant une dizaine de jours afin de recueillir par ponction transvaginale des ovocytes matures. Cette stimulation peut être débutée à n'importe quel moment du cycle avec un taux de recueil ovocytaire identique en phase folliculaire et lutéale (figure 33.2) [11]. Le rendement de la stimulation est inférieur à la population témoin infertile, même chez les patientes n'ayant pas encore débuté leur chimiothérapie (augmentation de la durée moyenne de stimulation avant la ponction, diminution du nombre d'ovocytes matures recueillis et augmentation du taux de mauvaises réponses et d'abandons) [12].

Les taux supraphysiologiques d'œstradiol sériques atteints au cours de la stimulation ovarienne contre-indiquent l'utilisation de protocoles de stimulation classiques. Un anti-aromatase tel que le létrozole peut être associé à l'administration de FSH exogène pendant toute la durée de la stimulation et devra être prolongé quelques jours après le déclenchement [13, 14]. L'utilisation des anti-aromatases ne bénéficie pas encore de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) en France dans cette indication.

Vitrification ovocytaire ou embryonnaire sans stimulation : maturation ovocytaire *in vitro*

La maturation ovocytaire *in vitro* (MIV) consiste à recueillir des ovocytes immatures au stade de vésicule germinative à partir des follicules antraux. Les complexes cumulo-ovocytaires obtenus par ponction transvaginale écho-guidée, sous sédation, sont mis en culture pendant 24 à 48 h, en vue d'obtenir des ovocytes matures. Seuls les ovocytes ayant maturé *in vitro* seront aptes à être vitrifiés ou congelés après fécondation. Une des limites de cette technique reste le recueil ovocytaire relativement aléatoire [15]. Par ailleurs, à l'issue du processus de MIV, seule la moitié des ovocytes atteindront le stade de métaphase II [16]. Enfin, le potentiel des ovocytes et embryons vitrifiés après MIV est moins bon que lorsque les ovocytes sont obtenus après stimulation ovarienne [17].

Principe de la cryoconservation ovocytaire ou embryonnaire

La stimulation ovarienne comme la MIV permettent une cryopréservation d'ovocytes matures ou d'embryons. Le choix sera fonction du statut conjugal de la patiente.

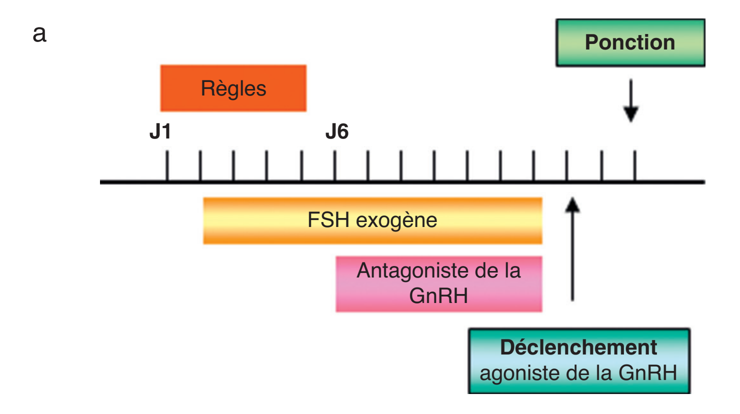
Cryopréservation embryonnaire : les ovocytes matures sont fécondés par ICSI *(intracytoplasmic sperm injection)*. Le taux de fécondation est en moyenne de 60 %. Les embryons pourront être vitrifiés au stade zygote ou après 48 h. Les taux de survie après dévitrification sont excellents, de l'ordre de 90 %. La législation française implique que la décongélation des embryons ne puisse se faire qu'à la condition où la demande émane des deux membres du couple. Le transfert intra-utérin des embryons nécessitera une préparation endométriale par traitements hormonaux.

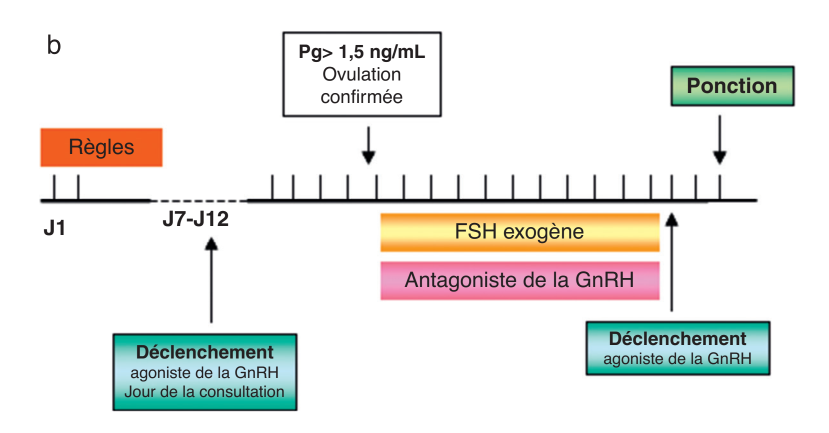
Cryopréservation ovocytaire : bien que plus récente, la congélation ovocytaire a subi au cours de la dernière décennie des avancées majeures, notamment avec le développement de la vitrification. Les taux de survie ovocytaire après décongélation sont désormais de l'ordre de 80 % [18], conduisant pour certains centres à des taux de grossesses similaires à ceux obtenus avec des ovocytes frais [18]. La cryopréservation ovocytaire représente actuellement la seule option pour les patientes célibataires.

La réutilisation des gamètes ou des embryons ne pourra se faire qu'après accord de grossesse par le médecin oncologue. En France, l'assistance médicale à la procréation (AMP) est prise en charge par la sécurité sociale jusqu'à 43 ans chez les femmes. Dans le cadre du cancer, il n'y a pas de dérogation. Il faudra par conséquent en aviser les patientes au moment de la consultation d'oncofertilité.

Analogues de la GnRH

L'objectif de l'administration d'agonistes de la GnRH ***(gonadotropin-releasing hormone)*** en cours de chimiothérapie est de mettre au repos l'axe hypothalamo-hypophysaire, afin de protéger





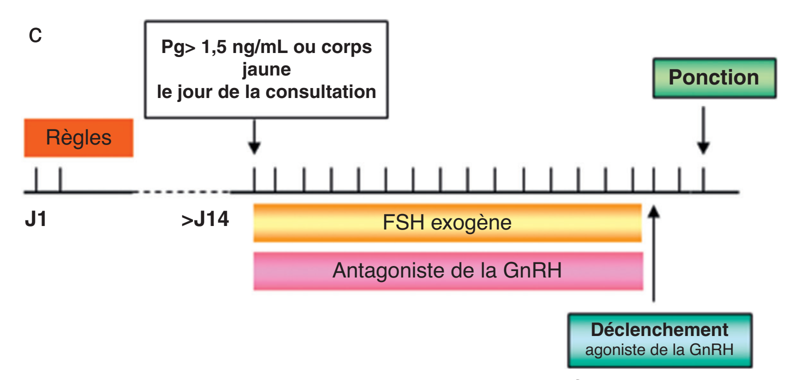


Figure 33.2 **Schémas de protocoles utilisés en préservation de la fertilité.**
a. Protocole antagoniste en phase folliculaire précoce.
b. Protocole antagoniste en phase folliculaire tardive.
c. Protocole antagoniste en phase lutéale : *random start protocol*.

le stock de follicules primordiaux, via une déprivation en FSH. Le rationnel de l'utilisation de ces traitements en cours de chimiothérapie reste très controversé, de même que leur efficacité [19]. Actuellement, il n'y a aucun argument pour les proposer en systématique en vue d'une préservation de la fertilité. Leur intérêt pourrait tenir principalement au fait de constituer une bonne méthode contraceptive parentérale, sans saignements vaginaux.

Techniques chirurgicales de préservation de la fertilité

Cryoconservation de tissu ovarien (cortex)

Il s'agit d'une technique expérimentale dont l'objectif est de cryoconserver du tissu ovarien et ses follicules de réserve. Elle consiste en un prélèvement chirurgical d'un fragment de cortex ovarien, par cœlioscopie sous anesthésie générale [20]. Les fragments de corticale ovarienne sont congelés selon un processus de congélation lente. Les follicules primordiaux et primaires, très résistants au processus de décongélation pourront être transplantés ultérieurement par autogreffe avasculaire, en orthotopique (cavité pelvienne) ou en sites hétérotopiques (avant-bras, paroi abdominale) [21]. Il existe actuellement un nombre très limité de grossesses obtenues (une quarantaine dans le monde entier) [21].

Transposition ovarienne

Cette technique chirurgicale a initialement un objectif de préservation de la fonction ovarienne endocrine avant irradiation pelvienne pour cancer non gynécologique, avec utérus fonctionnel en place, chez des femmes de moins de 40 ans, sans chimiothérapie gonadotoxique associée (cancer du rectum, sarcome du bassin, épendymome). Le principe est de fixer, par cœlioscopie, un (classiquement le droit) ou les deux ovaires en dehors de son hémi-pelvis, à au moins 3 cm au-dessus de la limite du champ d'irradiation. Un clip métallique est posé à la partie inférieure de l'ovaire, pour marquer sa position et aider au repérage de la radiothérapie.

La transposition ovarienne reste cependant difficile à évaluer. En effet, si une production hormonale est le plus souvent récupérée, la quantité ainsi que la qualité ovocytaires post-transposition restent altérées. Les grossesses peuvent être obtenues naturellement ou après fécondation *in vitro* (FIV) sans repositionnement des ovaires (recueil ovocytaire par voie transabdominale). Par ailleurs, l'utérus ayant été exposé à la radiothérapie surajoute une difficulté à l'obtention d'une grossesse. Enfin, certaines complications sont spécifiquement associées à la transposition ovarienne, notamment la défixation de l'ovaire, les douleurs pelviennes chroniques, l'infarctus de la trompe laissée en place, les kystes ovariens (30–40 %) [22].

Le tableau 33.3 résume les avantages et inconvénients des différentes méthodes de préservation de la fertilité féminine.

Cadre légal

En France, la préservation de la fertilité s'inscrit dans les différentes lois de bioéthique depuis 1994. L'article L. 2141-11, modifié par la loi 2011–814 du 7 juillet 2011, prévoit que : « Toute personne dont la prise en charge médicale est susceptible d'altérer la fertilité, ou dont la fertilité risque d'être prématurément altérée, peut bénéficier du recueil et de la conservation de ses gamètes ou de ses tissus germinaux, en vue de la réalisation ultérieure, à son bénéfice, d'une assistance médicale à la procréation ou en vue de la préservation et de la restauration de sa fertilité. »

La révision de la loi de bioéthique du 6 août 2004 (article L. 2141-11 du Code de la santé publique) sur la conservation de gamètes à usage autologue autorise l'autoconservation des gamètes et du tissu germinal.

L'ordonnance du 22 mai 2008 et la nouvelle version de l'article L. 2141-11 autorisent la réimplantation ultérieure par autogreffe des fragments ovariens.

Le décret du 7 juillet 2011 légalise la conservation des embryons dans le cadre de la préservation de la fertilité.

Tableau 33.3 Avantages et inconvénients des différentes techniques de préservation de la fertilité féminine.

	Avantages	Inconvénients
Stimulation ovarienne	Technique de référence (meilleurs résultats) Réalisable quelle que soit la phase du cycle Prélèvement ovocytaire peu invasif Pas de risque de réintroduction de cellules malignes	Patientes pubères Réserve ovarienne suffisante Risque de mauvaise réponse Durée de la stimulation (2 à 5 semaines) Hyperestradiolémie induite Nombre limité d'ovocytes congelés
Maturation *in vitro*	Réalisable quelle que soit la phase du cycle Réalisable en urgence Absence d'hyperestradiolémie induite Prélèvement ovocytaire peu invasif Possibilité d'association à une cryopréservation de tissu ovarien Pas de risque de réintroduction de cellules malignes	Expérimentale Patientes pubères Recueil ovocytaire aléatoire Nombre limité d'ovocytes congelés Potentiel ovocytaire moindre que celui des ovocytes recueillis après stimulation
Cryoconservation de tissu ovarien	Seule technique utilisable avant la puberté Réalisable en urgence Possibilité d'association à une maturation *in vitro* Restitution d'une fonction ovarienne endocrine Possibilité de grossesse naturelle après greffe Grand nombre de follicules cryopréservés	Expérimentale Prélèvement chirurgical
Analogues de la GnRH	Peu invasif Contraceptif	Efficacité non prouvée Effets indésirables liés à déprivation en œstrogènes

Références

[1] La vie deux ans après un diagnostic de cancer – De l'annonce à l'après-cancer. Collection Études et enquêtes. INCa; juin 2014.

[2] Gougeon A. Ovarian follicular growth in humans : ovarian ageing and population of growing follicles. Maturitas 1998; 30 : 137–42.

[3] Mazur P, Seki S, Pinn IL, et al. Extra- and intracellular ice formation in mouse oocytes. Cryobiology 2005; 51 : 29–53.

[4] Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy : a committee opinion. Fertil Steril 2013; 100 : 1214–23.

[5] Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, et al. Restoration of ovarian function after orthotopic (intraovarian and periovarian) transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a woman treated by bone marrow transplantation for sickle cell anaemia : case report. Hum Reprod 2006; 21 : 183–8.

[6] Chiarelli AM, Marrett LD, Darlington GA. Pregnancy outcomes in females after treatment for childhood cancer. Epidemiology 2000; 11 : 161–6.

[7] Critchley HO. Factors of importance for implantation and problems after treatment for childhood cancer. Med Pediatr Oncol 1999; 33 : 9–14.

[8] von Wolff M, Germeyer A, Nawroth F. Fertility preservation for non-medical reasons : controversial, but increasingly common. Dtsch Arztebl Int 2015 ; 112 : 27–32.
[9] Lawrenz B, Fehm T, von Wolff M, et al. Reduced pretreatment ovarian reserve in premenopausal female patients with Hodgkin lymphoma or non-Hodgkin-lymphoma--evaluation by using antimullerian hormone and retrieved oocytes. Fertil Steril 2012 ; 98 : 141–4.
[10] Dolmans MM, Martinez-Madrid B, Donnez J. Efficacy of in vitro fertilization after chemotherapy. Fertil Steril 2005 ; 83 : 897–901.
[11] Von Wolff M, Frambach T, Zeeb C, et al. Ovarian stimulation to cryopreserve fertilized oocytes in cancer patients can be started in the luteal phase. Fertil Steril 2009 ; 4 : 1360–5.
[12] Potdar N, Gelbaya TA, Nardo LG. Oocyte vitrification in the 21st century and post-warming fertility outcomes : a systematic review and meta-analysis. Reprod Biomed Online 2014 ; 29 : 159–76.
[13] Cakmak H, Katz A, Cedars MI, Rosen MP. Effective method for emergency fertility preservation : random-start controlled ovarian stimulation. Fertil Steril 2013 ; 100 : 1673–80.
[14] Oktay K, Hourvitz A, Sahin G, et al. Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy. J Clin Endocrinol Metab 2006 ; 91 : 3885–90.
[15] Rao GD, Tan SL. In vitro maturation of oocytes. Semin Reprod Med 2005 ; 23 : 242–7.
[16] Lee JA, Sekhon L, Grunfeld L, Copperman AB. In-vitro maturation of germinal vesicle and metaphase I eggs prior to cryopreservation optimizes reproductive potential in patients undergoing fertility preservation. Curr Opin Obstet Gynecol 2014 ; 26 : 168–73.
[17] Chian RC, Huang JY, Gilbert L, et al. Obstetric outcomes following vitrification of in vitro and in vivo matured oocytes. Fertil Steril 2009 ; 91 : 2391–8.
[18] Cobo A, Kuwayama M, Perez S, et al. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. Fertil Steril 2008 ; 89 : 1657–64.
[19] Yang B, Shi W, Yang J, et al. Concurrent treatment with gonadotropin-releasing hormone agonists for chemotherapy-induced ovarian damage in premenopausal women with breast cancer : a meta-analysis of randomized controlled trials. Breast 2013 ; 22 : 150–7.
[20] Ovarian tissue cryopreservation : a committee opinion. Fertil Steril 2014 ; 101 : 1237–43.
[21] Donnez J, Dolmans MM, Pellicer A, et al. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue : a review of 60 cases of reimplantation. Fertil Steril 2013 ; 99 : 1503–13.
[22] Morice P, Castaigne D, Haie-Meder C, et al. Laparoscopic ovarian transposition for pelvic malignancies : indications and functional outcomes. Fertil Steril 1998 ; 70 : 956–60.

Analyse du premier globule polaire ou diagnostic préconceptionnel : une technique innovante ?

Chapitre 34

F. Vialard, L. Alter, D. Molina-Gomes, F. Boitrelle, M. Bergere, J. Selva

Le diagnostic préconceptionnel (DPC), décrit pour la première fois en 1990 [1], est considéré, par beaucoup, comme une alternative au diagnostic pré-implantatoire (DPI) et au *screening* pré-implantatoire (SPI) des aneuploïdies [2]. Il s'agit, non pas du diagnostic d'une anomalie embryonnaire, mais du diagnostic indirect, sur globule polaire (GP), de la constitution génétique de l'ovocyte. À l'opposé du DPI, fait sur blastomère [3], le DPC s'effectue sur le premier GP avant la fécondation, voire sur les deux GP après la fécondation.

Actuellement, le DPI est considéré par de nombreuses équipes comme la méthode de choix pour le diagnostic des anomalies génétiques avant transfert embryonnaire, que ces anomalies soient monogéniques ou chromosomiques. En effet, le DPI et le SPI permettent le diagnostic des anomalies d'origine paternelle et maternelle. Pour le DPC, seules les anomalies d'origine maternelle sont possibles si on analyse les deux GP, et uniquement celles survenant durant la première division méiotique si seul le premier GP est analysé.

Si un avantage certain existe donc pour le SPI, des études randomisées ont toutes montré que, si celui-ci était réalisé sur des embryons à J3, il avait plutôt un rôle délétère. Cet effet négatif serait lié :

- à l'effet délétère de la biopsie ;
- au fait que ces études n'analysaient qu'un nombre limité de chromosomes, entre cinq et neuf initialement ;
- au chaos chromosomique lors des premières divisions.

Le chaos chromosomique entraîne de très fréquentes mosaïques embryonnaires et constitue une des caractéristiques de la période pré-implantatoire de notre espèce. Ceci constitue un des écueils majeurs du DPI à ce stade [4]. Il a été estimé à 60 % la probabilité de mosaïque pour un embryon [5]. Il existe donc une faible représentativité d'une ou deux cellules pour un embryon de sept à huit cellules. De plus, il existe des possibilités de régulation ultérieure des embryons anormaux. Ceci a été souligné par une étude qui faisait état de la constitution de cellules souches embryonnaires normales à partir d'embryons anormaux issus du SPI [6]. Il y aurait ainsi une autocorrection ou sélection des lignées normales en culture, sans que l'on sache exactement à quelle étape cette éventuelle régulation se produit en culture *in vitro* et si oui ou non elle serait possible *in vivo*. De plus, il a été montré que dès le stade embryonnaire à « quatre cellules », les blastomères n'étaient pas identiques et qu'il y avait mise en place d'une polarité embryonnaire [7, 8]. Au total, il semblerait que si le DPI sur deux blastomères augmente la fiabilité

du résultat, il pourrait induire un effet plus délétère qui toutefois n'a pas été démontré. Ainsi, il a été proposé deux améliorations pour la réalisation de ces analyses : une biopsie au stade de blastocyste à J5 et l'analyse de l'ensemble des chromosomes par les nouvelles techniques de génétique moléculaire. Ceci est d'autant plus réalisable que la vitrification permet aujourd'hui une conservation aisée des embryons.

Or, en 2015, dans certains pays comme la Suisse, l'Autriche, l'Allemagne et l'Italie, le diagnostic sur embryons est interdit, et dans d'autres pays comme la France, il est impossible si une anomalie génétique n'a pas été identifiée chez un parent, même si le couple appartient à un groupe à risque accru d'aneuploïdie. Dans ces situations, comme l'âge de la patiente supérieur à 35 ans, l'échec récurrent d'implantation embryonnaire, les fausses couches à répétition, les aneuploïdies à répétition, le SPI est *de facto* interdit.

Que ce soit le DPI, ou SPI ou DPC, l'objectif de ces méthodes est d'éviter la survenue d'une grossesse ou la naissance d'un enfant portant une anomalie monogénique ou chromosomique et/ou d'augmenter les succès des techniques d'assistance médicale à la procréation en éliminant du transfert les embryons porteurs d'une anomalie de nombre des chromosomes. Au total, ces techniques nécessitent le recours à la fécondation *in vitro* (FIV) et sont donc proposées à deux groupes de couples : les couples infertiles et les couples fertiles mais ayant des antécédents d'anomalies génétiques associant interruptions médicales de grossesse, fausses couches spontanées, naissance d'enfants atteints de maladies génétiques graves. Pour ces couples, ces techniques sont considérées par beaucoup comme un diagnostic prénatal ultraprécoce.

L'objectif de ce chapitre est de faire le point sur le DPC, en sachant que cette approche a été reconnue en 2014 par l'Agence de la biomédecine comme une technique innovante. Ceci se fera après un rappel sur l'origine chromosomique des anomalies gamétiques et principalement ovocytaires qui ont amené à proposer ces techniques et sur les dernières données à notre disposition. Cette mise au point a d'autant plus d'intérêt que de nombreuses études semblent confirmer que l'analyse de l'ensemble des chromosomes – par des techniques d'analyse chromosomique sur puce à ADN ou par PCR *(polymerase chain reaction)* quantitative ou par l'utilisation des techniques de séquençage massif – permet une augmentation des chances de grossesse [9]. Ceci devrait permettre le démarrage d'une nouvelle étude de recherche d'ici quelques mois.

La part des gamètes dans la survenue des aneuploïdies

Notre espèce a une importante mortalité prénatale principalement due aux aneuploïdies. C'est H. Leridon, épidémiologiste, qui a pour la première fois montré de façon explicite qu'il existait dans notre espèce une forte mortalité prénatale [10]. En effet, il a recensé toutes les grossesses et leurs issues dans une large cohorte de femmes et a ainsi montré que moins de 40 % des grossesses débutées arrivaient à terme et que les accidents survenaient très majoritairement durant le premier trimestre de la grossesse. Les chances de concevoir, sans aide médicale, un enfant vivant à terme, sont estimées à 21–28 % par cycle naturel pour les femmes âgées de 20 à 30 ans [11], et la plupart des échecs reproductifs seraient dus à des anomalies chromosomiques embryonnaires.

Depuis fort longtemps, A. Boué et J. Boué [12] ont démontré, en réalisant le caryotype de fausses couches spontanées, que la majorité des échecs de reproduction étaient dus à des anomalies chromosomiques. Ils ont montré que cette fréquence d'anomalies chromosomiques était beaucoup plus importante parmi les « produits » de fausses couches (60 %) que parmi les « produits » d'interruption volontaire de grossesse (10 %) [12]. Cette étude montrait également la présence de trisomies (présence d'un chromosome en trois exemplaires au lieu de deux) impliquant tous les chromosomes à l'exception du chromosome 1. Par contre, aucune monosomie (un exemplaire au lieu de deux) n'a été retrouvée, à l'exception de celle du chromosome X (syndrome de Turner). L'interprétation de ce résultat était que les monosomies étaient très peu viables et conduisaient à la survenue de fausses couches trop précoces (avant 2 semaines) pour être reconnues. Les résultats récents ont confirmé cette donnée, puisque les

monosomies ont toutes été retrouvées au niveau embryonnaire en utilisant les techniques d'analyse des 24 chromosomes [13].

En étudiant les enfants porteurs de trisomie 13, 18 et 21, ainsi que les fœtus porteurs d'autres trisomies, l'origine majoritairement maternelle des aneuploïdies a été démontrée. Selon Hassold [14], 93 % des trisomies 18, 95 % des trisomies 21 et 100 % des trisomies 16 sont d'origine maternelle. De plus ces anomalies surviennent plus particulièrement durant la première division méiotique [14, 15] et l'âge maternel est à ce jour le seul facteur étiologique reconnu.

Puisque les anomalies chromosomiques de l'embryon relèvent pour l'essentiel de causes méiotiques, elles préexistent dans les gamètes matures, spermatozoïdes et ovocytes. L'étude cytogénétique de ces cellules revêt donc un caractère fondamental pour une meilleure compréhension des mécanismes de formation et de transmission de ces anomalies. Chaque gamète mature est le produit fini et unique du processus méiotique, et leur analyse n'est pas influencée par les paramètres de viabilité ou de perte embryonnaire précoce.

Les premières données ont fait état de taux d'anomalies chromosomiques ovocytaires de l'ordre de 15 à 20 % [16–19]. Ces études ont permis de mettre en évidence l'existence d'un mode de non-disjonction jusqu'ici passé inaperçu dans le processus méiotique humain, à savoir la séparation prématurée des chromatides sœurs ou SPCS (figure 34.1). Ce type d'anomalie méiotique aboutit à la ségrégation aléatoire des chromatides libres au cours des deux divisions méiotiques successives, et peut ainsi conduire à la formation de trisomies. Ainsi, parallèlement aux non-disjonctions chromosomiques conventionnelles, ce nouveau type d'erreur de ségrégation a dû être pris en compte, et des études réalisées sur de larges échantillons d'ovocytes humains issus d'échecs de FIV ont permis de démontrer que ce type de non-disjonction était en fait le mode majeur de non-disjonction intervenant dans la méiose féminine [18–21].

De plus, il semble que la SPCS soit liée de façon plus significative à l'âge de la patiente que la non-disjonction conventionnelle [22], avec une prépondérance des anomalies pour les chromosomes de petite taille comme cela a été confirmé par la suite [21].

Grâce au développement des techniques de micromanipulation et de fécondation *in vitro* d'une part, et de l'analyse génétique sur cellule unique d'autre part, il est devenu possible d'analyser l'ovocyte et l'embryon, et les premiers diagnostics sur GP ou blastomère ont été réalisés [1]. Mais, du fait de la plus grande complexité du diagnostic sur le premier GP, cette approche a été délaissée au profit du diagnostic effectué sur embryon ou DPI. Dès lors de nombreuses équipes ont réalisé le dépistage des aneuploïdies embryonnaires ou SPI chez les femmes âgées de plus de 35 ou 38 ans, et toutes montrent une très forte proportion d'anomalies chromosomiques, avec des taux avoisinant parfois les 70 % d'anomalies chromosomiques embryonnaires quand neuf chromosomes ont été étudiés [23]. D'autres catégories de patientes ont bénéficié du SPI [24], parmi lesquelles on trouve les patientes en échec d'implantation, dont la définition stricte est toujours discutée [25], les patientes ayant des fausses couches à répétition ou des aneuploïdies à répétition (interruptions médicales de grossesses, enfants porteurs d'aneuploïdies). Au total, et d'après le bilan de l'ESHRE réalisé en 2012 [26], dans 76,1 % des cas, une aneuploïdie était identifiée.

Afin de connaître l'origine des anomalies chromosomiques des études analysant les différents stades de développement ont été réalisées en analysant l'ensemble des chromosomes. Au total, si les anomalies ovocytaires restent les plus nombreuses, il semble que les anomalies de la première

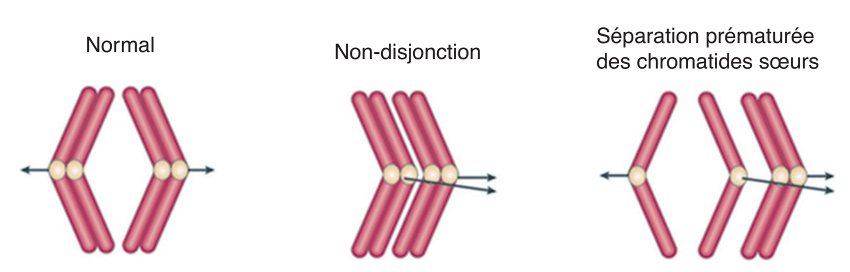


Figure 34.1 Les différents types d'anomalie de la première division méiotique.

division ne soit pas majoritaires, ce qui est en contradiction avec l'analyse des produites de fausses couches. Ainsi, les données récentes [27] semblent montrées que :

- les anomalies de la deuxième division sont les plus fréquentes, et qu'elles sont pour la plupart liées à un mécanisme de SPCS ;
- les taux d'anomalies au stade ovocytaire et blastocyste sont identiques et les anomalies touchent l'ensemble des chromosomes ;
- au stade d'embryons clivés, il y a une augmentation du taux d'anomalie, due à la participation du spermatozoïde mais aussi au fait que les premières divisions sont source d'erreur importante de ségrégation ;
- il y a une élimination des anomalies chromosomiques importantes entre le stade d'embryons clivés et celui de blastocyste, puis entre celui de blastocyste et les fausses couches avec élimination des monosomie et d'une partie des trisomies.

Il y a donc, au cours du développement embryonnaire, une élimination naturelle de certains déséquilibres chromosomiques permettant de diminuer de façon drastique la proportion de naissance aneuploïde.

À la vue de ces résultats, quelle est aujourd'hui la place du DPC ?

Le diagnostic préconceptionnel sur premier globule polaire en France

Méthode

Biopsie (figure 34.2)

Le DPC s'effectue dès le recueil des ovocytes, et il est réalisé sur les ovocytes matures, ayant expulsé leur premier GP. L'injection intracytoplasmique du spermatozoïde (*intracytoplasmic sperm injection* ou ICSI) est réalisée, quant à elle, l'après-midi pour les ovocytes diagnostiqués normaux. Les ovocytes non diagnostiqués, c'est-à-dire les ovocytes ayant expulsé leur premier GP entre le moment de la biopsie et l'injection, ou n'ayant pu être analysés en raison d'un échec technique peuvent également être micro-injectés si le couple est pris en charge, en ICSI, pour une infertilité.

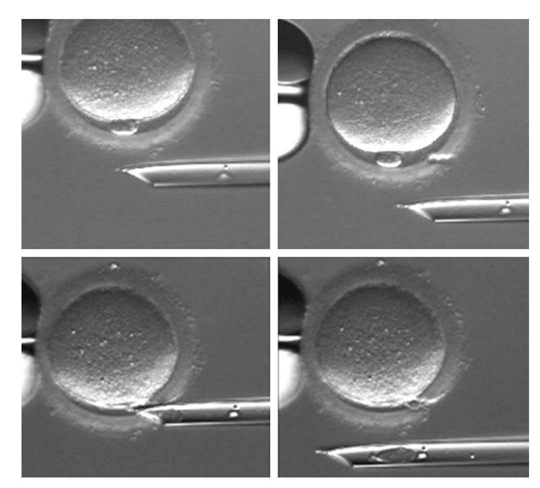


Figure 34.2 Biopsie du globule polaire sur un ovocyte en métaphase II, avant la mise en fécondation en ICSI.

Ces ovocytes, non diagnostiqués, ne seront pas micro-injectés si la patiente est fertile et a recours à l'ICSI pour des antécédents de fausses couches ou aneuploïdies à répétition.

La biopsie a été réalisée sur les ovocytes matures, après décoronisation par la hyaluronidase. L'ouverture de la zone pellucide peut être effectuée de façon mécanique, enzymatique ou à l'aide d'un laser type ZILOS-tk® laser (Hamilton) qui permet d'aménager un trou dans la zone pellucide après trois ou quatre impacts (180 mW pendant 0,5 ms). Le globule polaire est alors extrait à l'aide d'une micropipette de biopsie montée sur un microscope équipé d'un système de micromanipulation. Suivant le type d'analyse, le globule polaire sera soit placé dans une goutte d'eau de 0,5 µL sur une lame silicanée, soit déposé dans un tube afin d'être analysé avec une puce à ADN (analyse chromosomique sur puce à ADN ou ACPA). Cette étape de biopsie est très manipulateur-dépendant et doit être réalisée par des mains expertes (figure 34.3).

Analyse par FISH *(fluorescence in situ hybridization)*

Après fixation et passage dans plusieurs bains successifs, une goutte de solution de sondes spécifiques (ex. : kit Polar BodyTM PGT multicolour Abbott pour le *screening* des aneuploïdies) est déposée sur chaque GP pour l'hybridation. Après

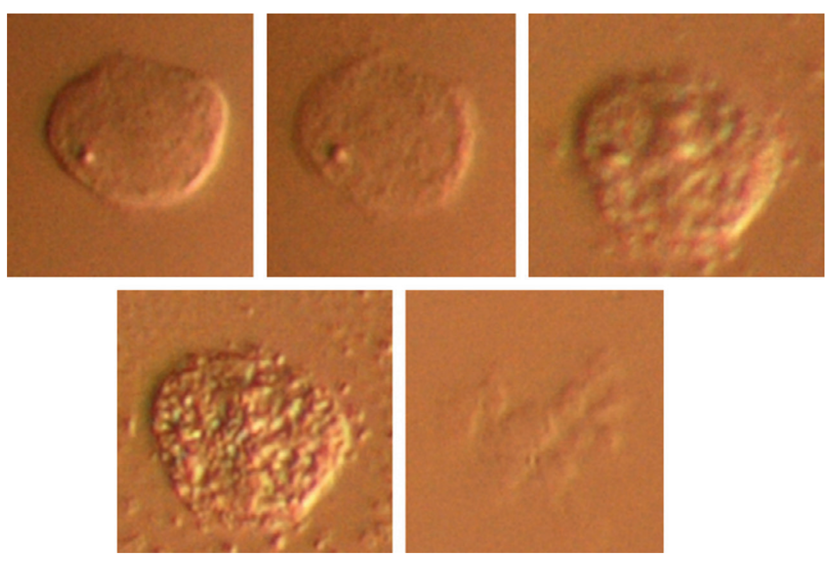


Figure 34.3 **Fixation du premier globule polaire par évaporation d'une goutte d'eau.**

lavage des lames, celles-ci sont interprétées en sachant que chaque premier GP contient un chromosome de chaque paire, constitué de deux chromatides sœurs (figure 34.4). Chaque signal (spot) correspond donc à une chromatide, et seule la présence de deux « spots » est considérée comme normale. Les deux mécanismes pouvant être à l'origine d'anomalies chromosomiques ovocytaires – non-disjonction chromosomique due à la non-séparation des chromosomes homologues et SPCS ou prédivision – peuvent être identifiés : zéro ou quatre spots correspondent donc à une non-disjonction, un ou trois spots à une SPCS. Enfin, la présence de deux spots séparés dans le premier GP est considérée comme normale malgré la séparation des deux chromatides sœurs (tableau 34.1).

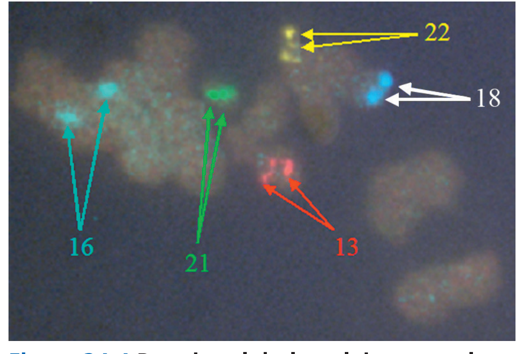


Figure 34.4 **Premier globule polaire normal : marquage spécifique *in situ* par la technique de FISH multicouleurs (kit MultiVysion PB®, Abbott).**
Chromosome 13 en rouge, 16 en bleu clair (acqua), 18 en bleu foncé, 21 en vert et 22 en jaune. Chaque spot correspond à une chromatide.

Analyse du premier globule polaire chez les patientes de plus de 35 ou 38 ans

Initialement, l'analyse du premier GP a été développée pour les patientes âgées de plus de 38 ans en analysant les chromosomes les plus fréquemment impliqués dans les fausses couches et les anomalies viables, à savoir les chromosomes 13, 16, 18, 21 et 22. Cette analyse visait uniquement à améliorer les taux de grossesses chez ces patientes. Elle a également montré une valeur diagnostique et pronostique pour les futures tentatives. De plus, elle nous a renseignés sur les mécanismes à l'origine des aneuploïdies ovocytaires et sur leur fréquence. Les premières études, concernant uniquement des patientes âgées de plus de 38 ans, ont ainsi montré un taux d'anomalies chromosomiques d'environ 30 % [20, 28, 29] et signalé, sur des ovocytes, en dehors de tout vieillissement *in vitro*, que la séparation prématurée des chromatides sœurs était à l'origine de la plupart des anomalies chromosomiques rencontrées. Parallèlement, de bons taux de grossesses par transfert ont été obtenus.

Tableau 34.1 Table d'interprétation.

Nombres de spots dans le globule polaire	0	1	2	3	4
Interprétation	Chromosome absent	Chromatide manquante	Normal	Chromatide en excès	Disomie du chromosome
Résultat attendu dans l'ovocyte II	Disomie du chromosome	Chromatide en excès	Normal	Chromatide manquante	Chromosome absent
Mécanisme	Non-disjonction	Prédivision	Normal	Prédivision	Non-disjonction

Analyse du premier globule polaire chez les patientes en échec d'implantation

De la même façon, il a été entrepris la réalisation de cette technique chez des patientes en échec d'implantation. Comme pour les patientes âgées de plus de 38 ans, il a été retrouvé chez ces patientes un taux d'anomalies de l'ordre de 40 % [30–32], mais des taux de grossesses bas chez des femmes âgées de moins de 38 ans. Par contre, il a été identifié un sous-groupe de patientes ayant un taux d'anomalies ovocytaires très élevé, supérieur aux deux tiers (pour « seulement » cinq chromosomes analysés), sous-groupe absent chez les femmes âgées de plus de 38 ans [32]. Dans ce sous-groupe, aucune grossesse n'a pu être obtenue. Très vraisemblablement, s'il avait été possible d'étudier tous les chromosomes, ces patientes n'auraient eu aucun ovocyte normal. De plus, il a été confirmé la très grande hétérogénéité de la population des patientes en échec d'implantation avec entre 0 et 100 % d'ovocytes anormaux. Enfin, il s'est avéré que les non-disjonctions et les séparations prématurées des chromatides sœurs avaient des fréquences identiques.

Analyse du premier globule polaire chez les patientes ayant des fausses couches à répétition et/ou des aneuploïdies à répétition

Il s'agit également de populations décrites comme à risque d'aneuploïdies ovocytaires. Ces patientes bénéficient dans le monde du *screening* des aneuploïdies ovocytaires. Les résultats montrent encore une fois un taux d'aneuploïdies embryonnaires très élevé [33]. Une étude du premier GP a été démarrée au centre hospitalier intercommunal de Poissy-Saint-Germain et les premiers résultats semblent confirmer de très fort taux d'aneuploïdies ovocytaires proches de ceux retrouvés en cas d'échec d'implantation embryonnaire, avec également une très grande variabilité interindividuelle.

Analyse du premier globule polaire : valeur prédictive en assistance médicale à la procréation

Afin d'étudier la valeur pronostique de l'étude du premier GP sur les tentatives ultérieures, il a été comparé chez 24 patientes la concordance des résultats de deux cycles d'analyse du premier GP [34] (suite à l'absence de grossesse au premier cycle ou suite à la demande d'une nouvelle grossesse dans notre centre). Il a ainsi été montré une corrélation entre les taux d'aneuploïdies des deux tentatives. Il existe donc un critère prédictif de l'analyse du premier GP. Ainsi, dans les cas où le taux d'anomalies est supérieur à 70 % pour seulement cinq chromosomes testés, il est important de discuter avec les couples de l'opportunité d'avoir recours à une autre stratégie. La réalisation d'une stimulation folliculaire plus légère peut être proposée, voir le don d'ovocyte et l'adoption. À l'inverse pour des taux inférieurs à 30 % (voisin de la population générale), l'échec reproductif n'a probablement pas une étiologie cytogénétique. Une altération de la qualité cytoplasmique ovocytaire ou des mécanismes d'implantation doit être suspectée. Entre les deux, le bénéfice de l'analyse du premier GP est probable, si la cohorte ovocytaire obtenue est suffisante.

Innocuité de la biopsie de premier globule polaire

En ce qui concerne la biopsie du premier GP, il a été analysé l'effet du laser et de la biopsie du premier GP sur des ovocytes maturés *in vitro* à J1, en étudiant les taux de lyse ovocytaire, d'activation ovocytaire avec du calcium ionophore, et de clivage. Aucune différence n'a été montrée selon que la biopsie de premier GP ou le laser sans biopsie ou aucune procédure n'ont été entrepris pour ces trois critères [35]. Cette étude tend à confirmer l'absence d'effet délétère de la biopsie du premier GP sur l'évolution immédiate de l'ovocyte. Ceci est de plus corroboré par le fait que les taux de fécondation et de clivage après biopsie du premier GP sont identiques à ceux de la population générale.

Néanmoins, aucune étude randomisée n'a été effectuée à ce jour pour démontrer son inocuité.

Analyse du premier globule polaire : intérêt dans la connaissance des mécanismes impliqués dans les aneuploïdies ovocytaires

Au total, l'analyse du premier GP a permis d'identifier une variabilité individuelle et une population de femmes à très haut risque d'anomalies chromosomiques gamétiques, anomalies qui touchent en particulier la cohésion des chromatides durant la méiose. Cette cohésion implique une classe particulière de protéines, les cohésines [36] qui maintiennent la cohésion entre les chromatides sœurs. Pendant la transition métaphase/anaphase, ces protéines sont clivées, entraînant le mécanisme de ségrégation chromosomique [37]. L'action des cohésines s'exerce au niveau des centromères, mais aussi sur de nombreux sites le long des bras chromosomiques. En fonction de leur implication dans la première ou deuxième division méiotique, elles subissent des séquences de dégradation différentes, extrêmement précises et orchestrées. Les principales protéines de cohésions se nomment SMC1, SMC3, RAD21 et REC8 [38], mais d'autres protéines peuvent intervenir de manière très ciblée. Ainsi, au cours de la première division méiotique (MI) une protéine nucléaire nommée Sughoshin (Sog1) intervient pour maintenir la cohésion centromérique entre les chromatides sœurs et ainsi empêcher leur séparation en MI. Puis, cette protéine est dégradée pour permettre la ségrégation des chromatides sœurs en anaphase de la deuxième division méiotique (MII) [39].

Une dégradation prématurée ou un défaut partiel de ces protéines pourrait entraîner une SPCS à l'origine d'une anomalie pouvant survenir à la première ou la deuxième division méiotique. Il a également été montré (données personnelles) une augmentation de la distance entre les chromatides sœurs chez les patientes de plus de 38 ans dans des ovocytes « normaux ». Ce résultat vient corroborer les données récentes qui montrent un lien entre l'augmentation des anomalies de deuxième division méiotique chez les patientes âgées et la SPCS [40].

Ainsi, l'hypothèse d'une dégradation progressive de ces protéines semble être possible pour expliquer le lien entre la SPCS, l'âge maternel et une susceptibilité génétique. L'existence éventuelle de polymorphismes, ou de mutations génétiques de facteurs impliqués dans la gamétogenèse chez ces patientes, pourrait expliquer cette variabilité individuelle observée.

Influence du micro-environnement dans la survenue des aneuploïdies ovocytaires

De plus, des changements subtils dans les conditions de régulation de la folliculogenèse et de la maturation ovocytaire paraissent capables d'induire des aneuploïdies, comme ceci a été montré chez la souris. Roberts [41] a montré qu'une exposition à forte dose de FSH *(follicle-stimulating hormone)* durant une maturation *in vitro* pourrait accélérer la croissance nucléaire et augmenter le pourcentage d'aneuploïdies en méiose II. Hodges [42] a montré une augmentation du taux des aneuploïdies ovocytaires chez des souris mutées pour le gène de la LH. Enfin, Van Blerkom [43] a montré que les stimulations répétées par FSH pourraient altérer la qualité du

fuseau méiotique et aussi augmenter le taux de chromosomes détachés de leurs fuseaux.

Chez l'homme, de nombreux arguments plaident en faveur d'une interaction entre environnement hormonal (FSH en particulier), qualité de la maturation ovocytaire, qualité de la méiose et risque d'aneuploïdie.

Il paraît donc envisageable de trouver des marqueurs dosables dans le sang et le liquide folliculaire (LF) prédictifs du risque d'aneuploïdie.

Il a ainsi été montré que le taux de FSH folliculaire était plus élevé dans le groupe des ovocytes anormaux et que cette augmentation semblait plutôt liée à la séparation des chromatides sœurs. De plus, ce taux semble lié au nombre d'anomalies retrouvées dans l'ovocyte. Ces résultats préliminaires suggèrent donc que la FSH pourrait avoir un rôle important dans la survenue des aneuploïdies ovocytaires et plus particulièrement les SPCS [44].

Diagnostic préconceptionnel chez les patientes porteuses d'une translocation réciproque équilibrée ou robertsonnienne

Avec la même technologie, il est possible d'analyser le premier GP des patientes porteuses d'une translocation équilibrée. Différents cas de figure peuvent se rencontrer tels qu'une anomalie classique de la ségrégation des chromosomes, entraînant obligatoirement la formation d'un gamète anormal malgré l'absence d'analyse de la deuxième division, ou des situations pouvant conduire à une anomalie dans 50 % ou plus des cas après achèvement de la méiose.

Si peu d'études ont été réalisées, il semble qu'en fonction des indications, la proportion de gamètes aneuploïdes retrouvée est différente. Ainsi, pour les patientes porteuses d'une translocation robertsonnienne, dont la réalisation du caryotype a été faite de façon fortuite, précédant la prise en charge en ICSI pour altération majeure de la spermatogenèse chez son conjoint, le risque d'aneuploïdie est faible à modéré. À l'inverse pour les autres patientes, ayant des antécédents obstétricaux (fausse couche spontanée, interruption médicale de grossesse…) ce risque est majeur, avec une proportion très importante d'ovocytes anormaux [45].

Au total, cette analyse est une alternative crédible au DPI et réalisable chez un grand nombre de patientes. De la même façon, ce test est reproductible et montre tout son intérêt pour les patientes fertiles ayant des antécédents de grossesses anormales où le taux d'anomalies est reproductible d'une tentative à une autre (données personnelles). Un fort taux d'anomalies doit faire réfléchir aux réelles chances d'obtenir une grossesse par en intraconjugal.

Malgré l'utilité de cette analyse, celle-ci ne peut se réaliser que via un projet de recherche en France, l'Agence de la biomédecine ayant limité l'analyse du premier GP au *screening* des aneuploïdies ovocytaires avec cinq chromosomes.

Diagnostic préconceptionnel chez les patientes porteuses d'une anomalie monogénique

Comme pour les translocations réciproques, il est possible d'analyser les ovocytes chez toutes les patientes porteuses d'une anomalie monogénique, et ceci est fait dans les pays où le DPI est interdit [2]. Il peut s'appliquer en premier lieu aux maladies récessives liées à l'X comme la myopathie de Duchenne, l'hémophilie ou l'X fragile, et aux maladies autosomiques dominantes. Dans le cas des anomalies récessives autosomiques, la sélection est également possible même si 50 % des ovocytes seront éliminés, alors que 25 % seulement le seraient par le DPI. De même que pour la précédente application, la législation française ne permet pas cette analyse.

Analyse du premier globule polaire : les inconvénients

Si, à l'inverse du SPI et/ou DPI où seuls les embryon ayant une morphologie dite normale sont analysés, le DPC permet l'analyse de l'ensemble de la cohorte ovocytaire, cette approche souffre de quelques écueils techniques. On constate une prépondérance de signaux manquants (un ou zéro) par rapport au gain de spots (trois ou quatre) [28]. Il peut s'agir d'un phénomène physiologique, mais la question des artéfacts techniques doit bien sûr être posée et ceci d'autant que les dernières études utilisant

l'analyse chromosomique sur puce à ADN ont montré une proportion identique entre les gains et les pertes. Le seul moyen de répondre à cette interrogation est la réalisation systématique de FISH de contrôle sur ovocytes diagnostiqués anormaux. Une seule étude [46] a tenté de vérifier la fiabilité de l'analyse du GP en analysant l'ovocyte. Le taux de concordance (75 %) n'était pas très bon ; mais en cas de divergence, il est bien difficile de dire où se situe l'erreur, c'est-à-dire sur l'analyse du GP ou sur l'ovocyte. La FISH sur ovocyte est techniquement plus difficile que la FISH sur GP et les écueils techniques sont encore plus nombreux. En particulier, le cytoplasme, s'il n'est pas bien éliminé, gêne l'hybridation. On s'attend donc à plus d'échecs d'hybridation sur l'ovocyte que sur le globule polaire.

Le deuxième écueil est lié à la possible correction des SPCS lors de la deuxième division méiotique. Dans le cas des SPCS, les ovocytes II anormaux conduisent à 50 % d'ovules anormaux théoriquement. Mais, peut-on prendre le risque d'injecter un ovocyte qui a une chance sur deux d'évoluer vers un embryon porteur d'une aneuploïdie viable ? Ce constat est en fait un problème général dans la « sélection » des gamètes ou des embryons pour le transfert. Cette période pré-implantatoire est très riche en événements génétiques avec des anomalies surimposées et une régulation génétique « normalisant » peut-être certaines anomalies. Ainsi en pratique courante de FIV classique, les embryons à 3PN sont détruits alors que 25 à 35 % d'entre eux pourraient évoluer en un embryon diploïde [47, 48]. De plus, une grande proportion (53 %) des embryons 3PN seront mosaïques après clivage comme une partie des embryons morphologiquement anormaux (43 %) [47].

Le dernier écueil est lié à l'analyse de la seule première division méiotique, qui semble ne correspondre qu'à moins de la moitié des déséquilibres chromosomiques ovocytaires si l'on considère qu'un ovocyte ayant toutes les chromatides séparées est normal. Ceci est probablement l'écueil majeur de cette technique, qui depuis l'avènement de la vitrification est en perte de vitesse notable dans le monde, sauf dans certains pays ayant une législation assez stricte vis-à-vis de l'embryon comme en France.

Quelles sont les avancées à espérer aujourd'hui ?

Analyse des deux globules polaires

Cette analyse peut être considérée comme une méthode de choix lorsque l'analyse de l'embryon est interdite. Cependant survenant après la fécondation, il ne peut être considéré comme un diagnostic sur gamète. Ceci est la raison pour laquelle cette analyse n'est pas autorisée en France. Néanmoins, les anomalies d'origine spermatique ne sont toujours pas identifiables, or isolées (sans anomalie ovocytaire additive) elles représentent environ 20 % des anomalies embryonnaires [49]. Il s'agit donc d'une technique alternative.

Utilisation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)

L'analyse restreinte à cinq chromosomes est un obstacle certain. L'utilisation de l'ACPA, après amplification du génome du GP puis comparaison à un ADN de référence, en réalisant une hybridation comparative permettra une analyse de tous les chromosomes (figure 34.5). De nombreuses études ont été réalisées comme cela à travers le monde, et il s'agit aujourd'hui du gold standard pour l'analyse des embryons ou des ovocytes. À quand une telle analyse en France afin de ne pas avoir une perte de chance pour nos patientes ?

Conclusion

Le diagnostic sur globule polaire à sa place comme une alternatice au DPI dans les situations à risque chromosomique connu (femmes âgées de plus de 35 ou 38 ans, femmes en échec d'implantation, femmes ayant des fausses à répétition) lorsque ce dernier est interdit comme en France. Il doit dorénavant être réalisé avec des méthodes pan-génomiques ne se limitant pas à l'analyse de cinq chromosomes comme le demande la législation française.

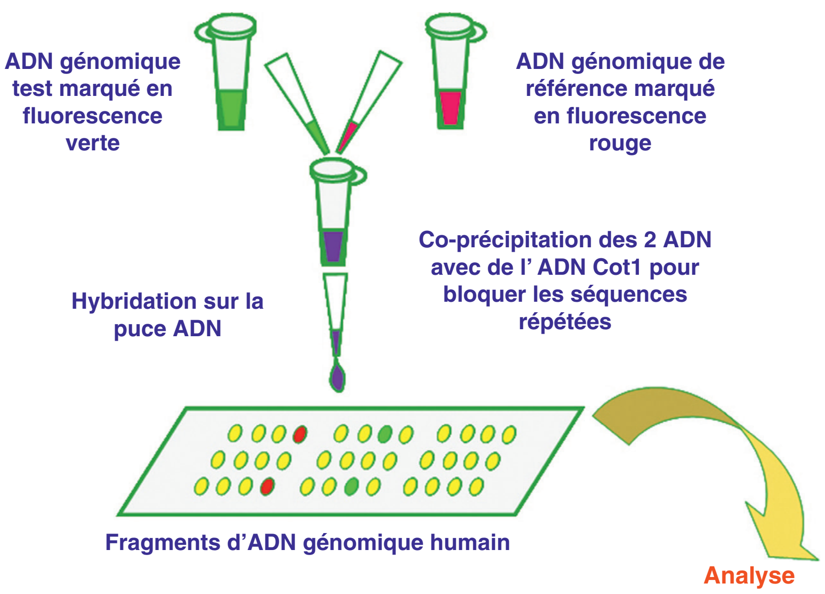


Figure 34.5 **Technique d'ACPA.**

De plus, il est une alternative dans les pays ayant une législation restrictive ou dans lesquels le délai de prise en charge est assez long pour les femmes porteuses d'une anomalie chromosomique ou conductrice d'une anomalie génique, en ayant recours à des techniques ciblées plutôt que celles pangénomiques.

Références

[1] Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A, et al. Analysis of the first polar body : preconception genetic diagnosis. Hum Reprod 1990 ; 5 : 826–9.
[2] Montag M, van der Ven K, Rosing B, van der Ven H. Polar body biopsy : a viable alternative to preimplantation genetic diagnosis and screening. Reprod Biomed Online 2009 ; 18(Suppl 1) : 6–11.
[3] Handyside AH, Pattinson JK, Penketh RJ, et al. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. Lancet 1989 ; 1 : 347–9.
[4] Munne S, Sandalinas M, Escudero T, et al. Chromosome mosaicism in cleavage-stage human embryos : evidence of a maternal age effect. Reprod Biomed Online 2002 ; 4 : 223–32.
[5] Los FJ, Van Opstal D, van den Berg C. The development of cytogenetically normal, abnormal and mosaic embryos : a theoretical model. Hum Reprod Update 2004 ; 10 : 79–94.
[6] Munne S, Velilla E, Colls P, et al. Self-correction of chromosomally abnormal embryos in culture and implications for stem cell production. Human Reprod 2005 ; 20 : i7.
[7] Edwards RG. Genetics of polarity in mammalian embryos. Reprod Biomed Online 2005 ; 11 : 104–14.
[8] Plusa B, Hadjantonakis AK, Gray D, et al. The first cleavage of the mouse zygote predicts the blastocyst axis. Nature 2005 ; 434 : 391–5.
[9] Dahdouh EM, Balayla J, Garcia-Velasco JA. Impact of blastocyst biopsy and comprehensive chromosome screening technology on preimplantation genetic screening : a systematic review of randomized controlled trials. Reprod Biomed Online 2015 ; 3 : 281–9.
[10] Leridon H. Patterns of fertility at later ages of reproduction. J Biosoc Sci 1979 ; (Suppl (6))59–74.
[11] Miller JF, Williamson E, Glue J, et al. Fetal loss after implantation. A prospective study. Lancet 1980 ; 2 : 554–6.
[12] Boue JG, Boue A. Frequency of chromosomal aberrations in spontaneous human abortions. C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D 1969 ; 269 : 283–8.
[13] Christopikou D, Tsorva E, Economou K, et al. Polar body analysis by array comparative genomic hybridization accurately predicts aneuploidies of maternal meiotic origin in cleavage stage embryos of women of advanced maternal age. Hum Reprod 2013 ; 28 : 1426–34.
[14] Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human : the genesis of human aneuploidy. Nat Rev Genet 2001 ; 2 : 280–91.
[15] Pellestor F. Frequency and distribution of aneuploidy in human female gametes. Hum Genet 1991 ; 86 : 283–8.
[16] Angell RR. Predivision in human oocytes at meiosis I : a mechanism for trisomy formation in man. Hum Genet 1991 ; 86 : 383–7.

[17] Selva J, Martin-Pont B, Hugues JN, et al. Cytogenetic study of human oocytes uncleaved after in-vitro fertilization. Hum Reprod 1991 ; 6 : 709–13.
[18] Nakaoka Y, Okamoto E, Miharu N, Ohama K. Chromosome analysis in human oocytes remaining unfertilized after in-vitro insemination : effect of maternal age and fertilization rate. Hum Reprod 1998 ; 13 : 419–24.
[19] Pellestor F, Andreo B, Arnal F, et al. Mechanisms of non-disjunction in human female meiosis : the co-existence of two modes of malsegregation evidenced by the karyotyping of 1397 in-vitro unfertilized oocytes. Hum Reprod 2002 ; 17 : 2134–45.
[20] Vialard F, Petit C, Bergere M, et al. Evidence of a high proportion of premature unbalanced separation of sister chromatids in the first polar bodies of women of advanced age. Hum Reprod 2006 ; 21 : 1172–8.
[21] Fragouli E, Wells D, Delhanty JD. Chromosome abnormalities in the human oocyte. Cytogenet Genome Res 2011 ; 133 : 107–18.
[22] Pellestor F, Andreo B, Arnal F, et al. Maternal aging and chromosomal abnormalities : new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes. Hum Genet 2003 ; 112 : 195–203.
[23] Verlinsky Y, Cohen J, Munne S, et al. Over a decade of experience with preimplantation genetic diagnosis : a multicenter report. Fertil Steril 2004 ; 82 : 292–4.
[24] Harper J, Sermon K, Geraedts J, et al. What next for preimplantation genetic screening ? Hum Reprod 2008 ; 23 : 478–80.
[25] O'Neill C, Ferrier AJ, Vaughan J, et al. Causes of implantation failure after in-vitro fertilisation and embryo transfer. Lancet 1985 ; 2 : 615.
[26] Harper J, Wilton L, Traeger-Synodinos J, et al. the ESHRE PGD Consortium : 10 year of data collection. Hum eprod Update 2012 ; 18 : 234–47.
[27] Christopikou D, Tsorva E, Economou K, et al. Polar body analysis by array comparative genomic hybridization accurately predicts aneuploidies of maternal meiotic origin in cleavage stage embryos of women of advanced maternal age. Hum Reprod 2013 ; 28 : 1426–34.
[28] Kuliev A, Cieslak J, Ilkevitch Y, Verlinsky Y. Chromosomal abnormalities in a series of 6,733 human oocytes in preimplantation diagnosis for age-related aneuploidies. Reprod Biomed Online 2003 ; 6 : 54–9.
[29] Montag M, van der Ven K, Dorn C, van der Ven H. Outcome of laser-assisted polar body biopsy and aneuploidy testing. Reprod Biomed Online 2004 ; 9 : 425–9.
[30] Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, Munne S. Preimplantation diagnosis for aneuploidies in patients undergoing in vitro fertilization with a poor prognosis : identification of the categories for which it should be proposed. Fertil Steril 1999 ; 72 : 837–44.
[31] Munne S, Sandalinas M, Escudero T, et al. Improved implantation after preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. Reprod Biomed Online 2003 ; 7 : 91–7.
[32] Vialard F, Lombroso R, Bergere M, et al. Oocyte aneuploidy mechanisms are different in two situations of increased chromosomal risk : older patients and patients with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. Fertil Steril 2007 ; 87 : 1333–9.
[33] Munne S, Sandalinas M, Magli C, et al. Increased rate of aneuploid embryos in young women with previous aneuploid conceptions. Prenat Diagn 2004 ; 24 : 638–43.
[34] Vialard F, Gomes DM, Hammoud I, et al. Stability of aneuploidy rate in polar bodies in two cohorts from the same patient. Reprod Biomed Online 2008 ; 17 : 213–9.
[35] Hammoud I, Vialard F, Albert M, et al. Are zona pellucida laser drilling and polar body biopsy safe for in vitro matured oocytes ? J Assist Reprod Genet 2010 ; 27 : 423–7.
[36] Michaelis C, Ciosk R, Nasmyth K. Cohesins : chromosomal proteins that prevent premature separation of sister chromatids. Cell 1997 ; 91 : 35–45.
[37] Waizenegger IC, Hauf S, Meinke A, Peters JM. Two distinct pathways remove mammalian cohesin from chromosome arms in prophase and from centromeres in anaphase. Cell 2000 ; 103 : 399–410.
[38] Marston AL, Amon A. Meiosis : cell-cycle controls shuffle and deal. Nat Rev Mol Cell Biol 2004 ; 5 : 983–97.
[39] Kitajima TS, Kawashima SA, Watanabe Y. The conserved kinetochore protein shugoshin protects centromeric cohesion during meiosis. Nature 2004 ; 427 : 510–7.
[40] Geraedts J, Montag M, Magli MC, et al. Polar body array CGH for prediction of the status of the corresponding oocyte. Part I : clinical results. Hum Reprod 2011 ; 26 : 3173–80.
[41] Roberts R, Iatropoulou A, Ciantar D, et al. Follicle-stimulating hormone affects metaphase I chromosome alignment and increases aneuploidy in mouse oocytes matured in vitro. Biol Reprod 2005 ; 72 : 107–18.
[42] Hodges CA, Ilagan A, Jennings D, et al. Experimental evidence that changes in oocyte growth influence meiotic chromosome segregation. Hum Reprod 2002 ; 17 : 1171–80.
[43] Van Blerkom J, Davis P. Differential effects of repeated ovarian stimulation on cytoplasmic and spindle organization in metaphase II mouse oocytes matured in vivo and in vitro. Hum Reprod 2001 ; 16 : 757–64.
[44] Hammoud I, Vialard F, Bergere M, et al. Follicular fluid protein content (FSH, LH, PG4, E2 and AMH) and polar body aneuploidy. J Assist Reprod Genet 2012 ; 29 : 1123–34.
[45] Molina Gomes D, Hammoud I, Bailly M, et al. Preconceptional diagnosis for Robertsonian translocation as an alternative to preimplantation genetic diagnosis in two situations : a pilot study. J Assist Reprod Genet 2009 ; 26 : 113–7.

[46] Cupisti S, Conn CM, Fragouli E, et al. Sequential FISH analysis of oocytes and polar bodies reveals aneuploidy mechanisms. Prenat Diagn 2003 ; 23 : 663–8.

[47] Bergere M, Selva J, Baud M, et al. Chromosome 18 analysis by fluorescence in situ hybridization (FISH) in human blastomeres of abnormal embryos after in vitro fertilization (IVF) attempt. Prenat Diagn 1995 ; 15 : 835–41.

[48] Grossmann M, Calafell JM, Brandy N, et al. Origin of tripronucleate zygotes after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1997 ; 12 : 2762–5.

[49] Sills ES, Li X, Frederick JL, et al. Determining parental origin of embryo aneuploidy : analysis of genetic error observed in 305 embryos derived from anonymous donor oocyte IVF cycles. Mol Cytogenet 2014 ; 7 : 68.

Diagnostic génétique pré-implantatoire

CHAPITRE 35

A. Le Bras-Mayeur, L. Hesters, N. Ahdad-Yata, M.-L. Maurin, J. Steffann, N. Achour-Frydman

Le diagnostic génétique pré-implantatoire (DPI) est un diagnostic génétique réalisé sur des cellules embryonnaires prélevées sur un embryon issu de fécondation *in vitro* (FIV). Ce diagnostic permet de déterminer si l'embryon est atteint par une maladie génétique familiale avant son transfert dans l'utérus. Le DPI est indiqué lorsque l'un des deux membres du couple ou les deux membres du couple sont porteurs soit d'un remaniement chromosomique de structure ou d'une anomalie du nombre des chromosomes soit d'une maladie monogénique. Dans les deux cas, la pathologie doit être reconnue comme d'une particulière gravité pour l'enfant à naître et incurable au moment du diagnostic. Le DPI consiste à´ prélever des cellules embryonnaires au 3e, 4e ou 5e jour du développement embryonnaire. Ces cellules sont ensuite soumises à une analyse génétique. Selon les indications, différentes techniques pourront être utilisées : l'hybridation *in situ* fluorescente (*fluorescence in situ hybridization* ou FISH) pour les indications chromosomiques et l'amplification génomique par *polymerase chain reaction* (PCR) pour les maladies monogéniques. Seuls les embryons indemnes (sains ou porteurs sains) pour l'anomalie recherchée seront transférés dans l'utérus.

Cadre légal du diagnostic pré-implantatoire

En France, son régime juridique est défini par deux lois :

- la loi du 29 juillet 1994 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, à l'assistance médicale à la procréation et au diagnostic prénatal ;
- la loi du 6 août 2004 relative à la bioéthique.

Ainsi depuis 2004, le diagnostic biologique effectué à partir de cellules prélevées sur l'embryon *in vitro* n'est autorisé qu'à titre exceptionnel dans les conditions suivantes :

- un médecin exerçant son activité dans un centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal (CPDPN) doit attester que le couple, du fait de sa situation familiale, a une forte probabilité de donner naissance à un enfant atteint d'une maladie génétique d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic ;
- le diagnostic ne peut être effectué que lorsqu'a été préalablement et précisément identifiée, chez l'un des parents ou l'un de ses ascendants immédiats dans le cas d'une maladie gravement invalidante, à révélation tardive et mettant prématurément en jeu le pronostic vital, l'anomalie ou les anomalies d'une telle maladie ;
- enfin, le diagnostic ne peut avoir d'autre objet que de rechercher cette affection ainsi que les moyens de la prévenir et de la traiter. Aucune recherche génétique supplémentaire ne peut donc être réalisée, ce qui implique de fait l'interdiction de la pratique de dépistage (trisomie 21 ou autres aneuploïdies).

Concernant le typage tissulaire (HLA), les conditions de sa mise en œuvre sont également précisées :

- le couple a donné naissance à un enfant atteint d'une maladie génétique entraînant la mort dès les premières années de la vie et reconnue comme incurable au moment du diagnostic ;

- le pronostic vital de cet enfant peut être amélioré, de façon décisive, par l'application sur celui-ci d'une thérapeutique ne portant pas atteinte à l'intégrité du corps de l'enfant né du transfert de l'embryon *in vitro*. Il s'agit donc de prélever le sang de cordon du nouveau-né issu de ce DPI afin d'y recueillir les cellules souches hématopoïétiques qui seront utilisées comme thérapie cellulaire pour l'enfant déjà malade ;
- le diagnostic a pour seul objet de rechercher la maladie génétique ainsi que les moyens de la prévenir et de la traiter et de permettre l'application de la thérapeutique.

Depuis 2005, le DPI est encadré par l'Agence de la biomédecine (ABM) qui délivre d'une part des agréments nominatifs pour les praticiens biologistes, responsables du prélèvement embryonnaire et de l'analyse génétique des cellules embryonnaires, et d'autre part une autorisation de fonctionnement pour les centres de DPI. L'ABM a également pour mission le recueil et l'analyse des bilans annuels d'activités des centres de DPI. En 2015, en France, quatre centres sont autorisés (Paris, Montpellier, Strasbourg et Nantes).

Indication de prise en charge en diagnostic pré-implantatoire

Maladies monogéniques

Le diagnostic pré-implantatoire moléculaire ne pourra être effectué que lorsque la maladie génétique résulte du dysfonctionnement d'un seul gène et lorsque le caractère familial a été clairement identifié. Ainsi, selon les lois de l'hérédité mendélienne, la transmission de ces maladies se fait selon deux modes : récessif ou dominant.

Maladies autosomiques dominantes

Le gène en cause est porté par un autosome et l'existence d'un seul allèle muté suffit pour que l'individu soit atteint (myotonie de Steinert, sclérose tubéreuse de Bourneville…). Les individus malades sont généralement hétérozygotes pour le gène impliqué et ont un risque sur deux de transmettre l'allèle muté, et une chance sur deux de transmettre l'allèle sain à leur descendance.

Maladies autosomiques récessives

Le gène en cause est porté par l'un des 22 autosomes et la présence des allèles mutés paternel et maternel est nécessaire pour que la maladie s'exprime. Les individus atteints ont deux copies mutées pour le gène en cause (mucoviscidose, amyotrophie spinale, drépanocytose…) [1]. Ainsi, un couple formé de deux conjoints sains hétérozygotes aura un risque sur quatre d'avoir un enfant atteint.

Maladies liées au chromosome X

Chaque individu possède 22 paires d'autosomes et une paire de gonosomes XX ou XY. L'individu masculin est donc hémizygote pour le chromosome X et ne possède qu'un seul exemplaire des gènes de ce chromosome. Lorsqu'une femme est porteuse d'une mutation sur un gène situé sur le chromosome X, la question du trait dominant ou récessif de la mutation ne se pose pas chez les individus de sexe masculin, ils seront atteints s'ils héritent du chromosome X maternel porteur du gène muté. En revanche, la question du risque de transmission aux individus de sexe féminin se posera si la maladie est dominante.

La pathologie la plus fréquente de demande de DPI pour une maladie dominante liée à l'X est le syndrome de l'X fragile [2, 3] pour lequel le DPI peut être proposé aux patientes porteuses d'une mutation complète ou d'une prémutation.

Cas particuliers : diagnostic pré-implantatoire avec typage cellulaire, maladies à révélation tardive, maladies mitochondriales

Depuis la première expérience de DPI couplant le diagnostic d'une maladie génétique (maladie de Fanconi) à un typage HLA des embryons, d'autres équipes ont utilisé le DPI pour le typage HLA des embryons avec transfert des embryons compatibles avec la fratrie atteinte dans des cas d'anémie de Fanconi, de thalassémie [4] et d'adrénoleucodystrophie.

Le DPI a été initialement autorisé pour des risques génétiques préexistants. Cependant, certaines maladies à révélation tardive telles que les prédispositions génétiques à des cancers (rétinoblastome, syndrome de Li et Fraumeni, syndrome de von Hippel-Lindau, polypose colique familiale…) ou encore les maladies neurodégénératives (sclérose latérale amyotrophique, maladie de Huntington) peuvent ouvrir la réflexion et le débat éthique concernant la réalisation d'un DPI. Le diagnostic prénatal de ces affections est largement discuté et le DPI est souvent considéré comme la moins mauvaise solution pour ces couples qui refusent de prendre le risque d'avoir un enfant atteint.

Enfin, les mitochondries, organites cytoplasmiques indispensables à la production d'énergie, possèdent leur propre ADN (ADNmt). Lors de la fécondation, bien que le spermatozoïde soit pourvu de mitochondries (une centaine), elles dégénèrent ou ne seront pas actives dans le cytoplasme de l'ovocyte. Ainsi, le zygote et le futur embryon possèdent uniquement les mitochondries de la mère qui est alors la seule vectrice de la maladie. Les manifestations de la maladie peuvent être très variables d'un individu à un autre et dépendent du taux de mitochondries porteuses de la mutation et du tissu concerné. En effet, durant l'ovogenèse, chaque ovocyte hérite d'un taux de mitochondries porteuses de la mutation différent. Après la fécondation, les clivages cellulaires successifs peuvent aboutir à une répartition différente des mitochondries mutées d'un blastomère à l'autre. Cette « mosaïque » peut conduire à ce que certains tissus soient porteurs d'une grande quantité de mitochondries mutées et d'autres pas.

L'objectif de ces DPI est de sélectionner les embryons *a priori* asymptomatiques pour la maladie donnée. Ainsi, seul les embryons présentant une homoplasmie sans mitochondries avec la mutation ou ceux présentant un taux d'hétéroplasmie de plus de 80 % en faveur de mitochondries saines seront transférés. Le syndrome MELAS (myopathie–encéphalopathie–acidose lactique–*stroke like*) ou le syndrome de Leigh sont deux exemples de maladies mitochondriales déjà prises en charge dans le centre de DPI d'Antoine Béclère/Necker enfants malades. Le prélèvement ovocytaire semblerait la meilleure solution mais n'est techniquement pas réalisable, la quantité de cytoplasme nécessaire pour obtenir une analyse fiable ne serait pas compatible avec la survie de l'ovocyte. Le globule polaire, petit élément satellite comprenant un peu de cytoplasme et qui n'est pas nécessaire pour la fécondation, pourrait être prélevé. Malheureusement la quantité de mitochondries mutées dans le globule polaire ne reflète pas celle de l'ovocyte [5, 6].

Remaniements chromosomiques

Anomalies de structure des chromosomes

La majorité des indications des DPI cytogénétiques correspondent aux translocations. On distingue deux types de translocation en fonction des chromosomes impliqués : robertsoniennes et réciproques [7].

Ces deux types de translocations peuvent aboutir à des déséquilibres chromosomiques, le plus souvent délétères pour le développement embryonnaire et être à l'origine de fausses couches spontanées [8, 9]. Cependant, l'évolution d'un enfant avec anomalies malformatives et handicap ne peut être exclue. Quel que soit le risque identifié, la pratique d'un DPI est indiquée.

D'autres anomalies de structure peuvent être l'objet d'un déséquilibre et d'un DPI cytogénétique comme par exemple les inversions péricentriques. Il s'agit de remaniements équilibrés faisant suite à deux cassures sur les deux bras d'un même chromosome entraînant au moment de la méiose des difficultés d'appariement. La survenue d'une recombinaison dans le segment inversé entraîne la formation de gamètes anormaux par duplication/déficience. Il s'agit d'une indication également reconnue en DPI [10].

Anomalies de nombre des chromosomes (aneuploïdies)

Le DPI a aussi été appliqué pour rechercher des aneuploïdies embryonnaires pour des couples sans anomalie du caryotype mais pris en charge en FIV notamment lorsque les femmes présentent un âge maternel avancé (> 37 ans), dans des cas d'échec d'implantation et de fausses couches à répétition. Ainsi, le DPI est alors utilisé comme dépistage des aneuploïdies et a pour objectif d'augmenter les taux de grossesses dans les groupes de patientes

avec un âge maternel élevé ou avec échecs de FIV. Ce type de DPI est largement utilisé dans le monde mais n'est pas autorisé en France [11].

Les demandes de DPI pour dysgonosomies peuvent également prêter à discussion. En effet, une aneuploïdie des gonosomes pose le problème de sa transmission à la descendance. Pour les hommes, le syndrome de Klinefelter (47,XXY) [12] pour lequel les hommes sont infertiles ou la disomie du chromosome Y (47,XYY) sont deux dysgonosomies assez fréquentes. Du côté féminin, il en est de même pour la triploïdie du chromosome X (47,XXX) ou la monosomie X lorsque la grossesse est autorisée (45,X).Cependant, une demande de DPI dans ce contexte ne paraît pas éligible et hors contexte du cadre législatif. Du côté féminin, il en est de même pour la triploïdie du chromosome X (47,XXX) ou la monosomie X lorsque la grossesse est autorisée (45,X).

Diagnostic de sexe

Dans certains cas de maladies monogéniques récessives liées à l'X pour lesquelles le diagnostic spécifique par PCR n'est techniquement pas applicable (mutation non identifiée), une détermination du sexe génotypique de l'embryon peut être proposée. L'analyse génétique est effectuée par FISH à l'aide de sondes centrométriques spécifiques du chromosome X et Y. Ainsi, seuls les embryons féminins seront transférés dans la mesure où seuls les embryons masculins sont à risque de développer la pathologie. L'avantage du recours à cette technique est sa faisabilité pour près de 200 pathologies, même en l'absence de mutation identifiée. L'inconvénient de cette situation est la non-réimplantation de 50 % d'embryons masculins sains. Myopathie de Duchenne, adrénoleucodystrophie, hydrocéphalie et retard mental sont quelques exemples de maladies liées à l'X prises en charge dans notre unité avec diagnostic de sexe [13].

Demandes de prises en charge dans le centre parisien

Depuis l'autorisation de pratique de DPI du centre parisien (2000), les demandes de prise en charge ont augmenté annuellement pour atteindre un plateau en 2010. Ainsi depuis 2010, autour de 300 demandes annuelles sont examinées dont 200 sont éligibles pour un DPI. La principale cause de refus de prise en charge est l'impossibilité de mettre en œuvre l'assistance médicale à la procréation (AMP) en raison de l'âge des patientes ou de la découverte d'une réserve ovarienne altérée.

Réalisation du diagnostic pré-implantatoire

Avant toute réalisation d'un DPI, les couples doivent donner leur consentement libre et éclairé. Le recueil de ce consentement doit se faire lors d'une consultation dédiée au cours de laquelle l'ensemble de la procédure est expliqué avec ses limites et ses contraintes.

Stimulation de l'ovulation

Comme dans le cadre d'une AMP mise en œuvre en cas d'infertilité, le DPI requiert une stimulation de la croissance folliculaire afin qu'elle soit multiple. L'objectif est d'obtenir plusieurs ovocytes qui seront mis en contact avec les spermatozoïdes du conjoint de la patiente bénéficiant de cette stimulation. Plusieurs embryons seront obtenus et certains d'entre eux seront prélevés en vue d'une analyse génétique. Les embryons indemnes évolutifs pourront être transférés dans l'utérus de la patiente ou bien congelés en vue d'un transfert ultérieur.

Fécondation *in vitro*

L'utilisation de l'ICSI *(intracytoplasmic sperm injection)* y compris pour des couples dont les paramètres spermatiques sont normaux est justifiée, car elle permet d'éliminer la présence de cellules de la granulosa ou de spermatozoïdes sur la zone pellucide des embryons ainsi conçus. En effet, lors de la biopsie embryonnaire si un spermatozoïde ou une cellule de la granulosa étaient emportés avec la cellule embryonnaire, le diagnostic génétique pourrait être faussé par ces cellules contaminantes. L'ICSI est donc utilisée dans le cadre de la maîtrise du risque en lien avec l'erreur de diagnostic.

Elle est généralement utilisée dans toutes les indications du DPI, mais paraît réellement justi-

fiée dans le cadre de l'utilisation de l'amplification génomique par PCR.

Prélèvement embryonnaire

Les premiers signes de fécondation sont évalués 18 à 20 h après l'ICSI par l'expulsion du deuxième globule polaire et la présence de deux pronuclei.

La morphologie embryonnaire est observée et décrite pour chaque embryon quotidiennement à l'aide d'un microscope inversé. Plusieurs catégories d'embryons peuvent être observées selon le nombre de blastomères, la typicité du clivage cellulaire, la proportion de fragments cytoplasmiques anucléés et la présence de blastomères multinucléés.

Il existe plusieurs écoles concernant le jour et la technique de biopsie. La méthode usuelle est de prélever un à deux blastomères au 3e jour du développement.

Les techniques de biopsie ne sont pas non plus consensuelles. L'ouverture dans la zone pellucide peut se faire par action physique avec un laser dont la source est en infrarouge ou chimique par la mise en contact avec une solution acide. Les blastomères sont traditionnellement aspirés à travers cette ouverture à l'aide d'une pipette de 30 à 35 µm de diamètre. Mais certains [14] ont proposé d'utiliser une pipette plus fine pour appuyer sur la zone pellucide afin d'extraire le blastomère par poussée.

Cette méthode aurait pour avantage de diminuer le contact du blastomère avec la pipette et de minimiser les effets de la biopsie sur l'embryon, qui aboutirait à une augmentation des taux d'implantation.

Certaines équipes [15] ont proposé une biopsie d'embryon au stade de blastocyste. La biopsie est réalisée au niveau du trophoblaste, trois à cinq cellules peuvent être prélevées sans porter atteinte à la masse cellulaire interne de l'embryon. Cette technique nécessite de réaliser une ouverture dans la zone pellucide à J3 pour laisser s'expandre à l'extérieur de l'embryon le trophectoderme afin qu'il soit facilement accessible à J5. Les auteurs ont rapporté une augmentation du taux d'implantation tout en réduisant le nombre de grossesses multiples. L'hypothèse serait que le blastocyste serait plus apte à reprendre son développement que l'embryon clivé à J3, ce qui favoriserait le transfert mono-embryonnaire.

Analyse génétique des cellules embryonnaires

Diagnostic moléculaire

Le diagnostic moléculaire, réalisé par PCR, permet d'amplifier une quantité minime d'ADN de manière exponentielle à partir de deux amorces situées de part et d'autre de la région d'intérêt. Les premières PCR sur cellule unique ont été réalisées en 1988 [16], suivies en 1990 des premiers DPI par analyse moléculaire [17]. Il existe deux méthodes diagnostiques le plus souvent utilisées de façon combinées permettant d'analyser l'ADN amplifié : une méthode directe et une méthode indirecte :

- la méthode directe consiste à amplifier la mutation pour la mettre secondairement en évidence [18–20] ;
- la méthode indirecte est souvent combinée au diagnostic direct. Mais elle permet également la réalisation du DPI lorsque la détection directe de la mutation est impossible. Elle repose sur l'analyse simultanée de plusieurs marqueurs polymorphes associés à la région étudiée. Ce sont le plus souvent des microsatellites ou STR *(simple tandem repeat)* qui sont étudiés. Cette technique est particulièrement utilisée dans des maladies comme la mucoviscidose, où il existe une très grande variété de mutations [21] et où un diagnostic spécifique par mutation n'est pas réalisable.

Diagnostic cytogénétique

Le diagnostic cytogénétique repose sur la FISH (hybridation *in situ* avec sondes d'ADN fluorescentes) dont le principe est l'hybridation d'une sonde (fragment d'ADN) marquée par un fluorochrome, avec l'ADN des chromosomes interphasiques dénaturés. Ces sondes sont spécifiques de certaines régions chromosomiques. La visualisation d'un signal fluorescent au microscope à épifluorescence signe la présence du fragment chromosomique étudié. Il est possible grâce à l'utilisation de plusieurs sondes marquées par des fluorochromes différents d'étudier simultanément plusieurs régions chromosomiques. Pour les translocations robertsoniennes deux sondes

télomériques spécifiques des bras longs des chromosomes acrocentriques [13–15, 21, 22] sont utilisées. Pour les translocations réciproques, trois sondes télomériques spécifiques des chromosomes impliqués dans le remaniement sont employées, dont deux sondes situées sur les régions transloquées. Pour le diagnostic de sexe, des sondes centromériques spécifiques des chromosomes X et Y sont utilisées. Ce système de marquage permet d'étudier l'ensemble des ségrégations possibles au cours de la méiose.

Transfert embryonnaire

Le transfert embryonnaire a lieu en général au 5e jour de développement. Les embryons ont normalement atteint le stade de blastocyste. Le choix de l'(des) embryon(s) à transférer se fera en fonction du résultat de l'analyse génétique qui a été pratiquée. Seuls l'(les) embryon(s) indemne(s) de la maladie génétique sera(ont) considéré(s) apte(s) pour un transfert embryonnaire.

Dans le cas de maladie récessive, les embryons hétérozygotes sont considérés comme indemnes et peuvent être transférés.

Lorsque le diagnostic n'a pas pu être obtenu sur les deux cellules prélevées, l'embryon peut être transféré sous réserve. Le couple sera alors informé de l'existence d'un risque d'erreur de diagnostic d'environ 5 %. Si le couple accepte le transfert et qu'une grossesse survient, un diagnostic prénatal (DPN) de confirmation sera discuté. En revanche, lorsqu'une grossesse survient après le transfert d'embryons pour lesquels le diagnostic génétique a été obtenu sur les deux cellules, sauf signes d'appel échographique ou anomalie des marqueurs sériques, le DPN de confirmation n'est absolument pas systématique. La sélection des embryons pour le transfert tient compte également de leur morphologie, mais ce critère de choix n'apparaît qu'au second plan.

Comme pour une AMP conventionnelle, s'il existe des embryons surnuméraires indemnes présentant une morphologie compatible avec la congélation, ces embryons seront vitrifiés en vue d'un transfert ultérieur.

Dépistage d'anomalies chromosomiques : pré-implantation, génétique et *screening*

Le dernier rapport d'activité du DPI publié en 2014 par le Consortium européen [22] est éloquent : 20 207 cycles d'AMP ont été réalisés pour un dépistage d'aneuploïdies (*preimplantation genetic screening* ou PGS), 676 pour une recherche de « sexe embryonnaire » et enfin 12 388 dans le cadre d'un risque de transmission d'une maladie génétique. L'activité de dépistage est donc bien supérieure à celle du diagnostic. Le point commun entre ces différentes offres de soins, c'est qu'elles utilisent toutes la biopsie embryonnaire avec cependant un objectif différent. Dans le cas du DPI, l'objectif est d'éviter la naissance d'un enfant gravement malade, alors que pour le PGS, c'est l'amélioration de la performance technique de l'AMP qui est recherchée. Le sexage embryonnaire quant à lui s'apparente à une médecine de confort qui soulève des réticences éthiques indiscutables. En pratique il s'agit de biopsier des embryons au 3e jour de développement et de soumettre le blastomère à une FISH sur cinq chromosomes [13, 16, 18, 21, 22] afin de sélectionner les embryons euploïdes.

Le PGS est interdit en France car le législateur n'est pas convaincu de la bienfaisance de cet acte. En effet, plusieurs études prospectives randomisées contre groupe contrôle (*randomized controlled trial* ou RCT) n'ont pas réussi à obtenir une augmentation du taux de naissance lorsque le PGS était appliqué [23–28] et pour deux études, il a même été observé une diminution du taux de naissance [29, 30]. Le PGS a alors été associé à une forme de malfaisance du soin. Ces résultats ont poussé plusieurs sociétés savantes *(American Society of Reproductive Medicine, British Fertility Society, European Society of Human Reproduction and Embryology)* à émettre une réserve quant à l'utilité du PGS au vu de l'absence de bénéfices obtenus et au nom de la minimisation du soin [31–33]. Plusieurs hypothèses ont été formulées pour expliquer l'absence d'efficacité du PGS :

- le nombre insuffisant de chromosomes testés (seulement cinq) ;
- l'existence de mosaïcisme embryonnaire au 3e jour de développement ;

- la possibilité de correction embryonnaire entre le moment de la biopsie et l'apparition du blastocyste;
- un possible effet délétère de la biopsie lorsqu'elle est pratiquée au 3e jour.

Depuis peu, nous assistons au développement des techniques d'analyse génétique sur cellule unique, ce qui a permis dans un premier temps d'augmenter le nombre de chromosomes testés en FISH de cinq à neuf [34] et dans un second temps d'analyser l'ensemble des chromosomes avec l'utilisation de la CGH-array. L'augmentation de sensibilité qui en résulte permet de démontrer que l'utilisation du PGS apporte un bénéfice sur le taux de grossesses [35]. En 2013, une publication a mis en évidence un probable effet délétère de la biopsie sur l'embryon lorsqu'elle était pratiquée au 3e jour en comparaison avec le 5e [36]. Ceci a encouragé les équipes à développer le PGS avec une biopsie effectuée sur le trophectoderme au stade de blastocyste. Ainsi deux RCT ont été publiées [37, 38] et rapportent des résultats extrêmement attractifs en termes de taux de succès. Le PGS a connu de nombreuses évolutions dans sa pratique en bénéficiant des progrès technologiques. La question de son utilisation en France n'est pas encore posée pour des raisons réglementaires mais une réflexion devra être menée.

Conclusion

Le DPI représente une véritable alternative au DPN et à l'interruption médicale de grossesse pour des couples dont les antécédents médicaux sont souvent très lourds : fausses couches à répétition, interruptions médicales de grossesse, mort néonatale, naissance d'un enfant gravement malade ou handicapé. Il nécessite une importante mobilisation des équipes pluridisciplinaires engagées dans sa réalisation ainsi qu'une coordination médicale parfaite entre les différents intervenants. Il demande également une très grande disponibilité de la part des patients. Les taux de réussite du DPI avoisinent les 30 % de grossesses par transfert d'embryons, il s'agit donc d'une démarche complexe mais dont les enjeux et les résultats sont vecteurs d'espoirs.

Références

[1] Girardet A, Ishmukhametova A, Willems M, et al. Preimplantation genetic diagnosis for cystic fibrosis : the Montpellier center's 10-year experience. Clin Genet 2015; 87 : 124–32.

[2] Sermon K, Seneca S, Vanderfaeillie A, et al. Preimplantation diagnosis for fragile X syndrome based on the detection of the non-expanded paternal and maternal CGG. Prenat Diagn 1999; 19 : 1223–30.

[3] Burlet P, Frydman N, Gigarel N, et al. Multiple displacement amplification improves PGD for fragile X syndrome. Mol Hum Reprod 2006; 12 : 647–52.

[4] Steffann J, Frydman N, Burlet P, et al. Extending preimplantation genetic diagnosis to HLA typing : the Paris experience. Gynecol Obstet Fertil 2005; 33 : 824–7 Review.

[5] Steffann J, Frydman N, Gigarel N, et al. Analysis of mtDNA variant segregation during early human embryonic development : a tool for successful NARP preimplantation diagnosis. J Med Genet 2006; 43 : 244–7.

[6] Gigarel N, Hesters L, Samuels DC, et al. Poor correlations in the levels of pathogenic mitochondrial DNA mutations in polar bodies versus oocytes and blastomeres in humans. Am J Hum Genet 2011 ; 88 : 494–8.

[7] Munné S. Preimplantation genetic diagnosis of numerical and structural chromosome abnormalities. Reprod Biomed Online 2002; 4 : 183–96.

[8] Frydman N, Romana S, Le Lorc'h M, et al. Assisting reproduction of infertile men carrying a Robertsonian translocation. Hum Reprod 2001 ; 16 : 2274–7.

[9] Keymolen K, Staessen C, Verpoest W, et al. A proposal for reproductive counselling in carriers of Robertsonian translocations : 10 years of experience with preimplantation genetic diagnosis. Hum Reprod 2009; 24 : 2365–71.

[10] Escudero T, Lee M, Stevens J, et al. Preimplantation genetic diagnosis of pericentric inversions. Prenat Diagn 2001 ; 21 : 760–6.

[11] Munné S, Sandalinas M, Escudero T, et al. Improved implantation after preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. Reprod Biomed Online 2003 ; 7 : 91–7.

[12] Tachdjian G, Frydman N, Morichon-Delvallez N, et al. Reproductive genetic counselling in non-mosaic 47, XXY patients : implications for preimplantation or prenatal diagnosis : case report and review. Hum Reprod 2003 ; 18 : 271–5 Review.

[13] Gigarel N, Frydman N, Burlet P, et al. Single cell co-amplification of polymorphic markers for the indirect preimplantation genetic diagnosis of hemophilia A, X-linked adrenoleukodystrophy, X-linked hydrocephalus and incontinentia pigmenti loci on Xq28. Hum Genet 2004; 114 : 298–305.

[14] Wang WH, Kaskar K, Ren Y, et al. Comparison of development and implantation of human embryos biopsied with two different methods : aspiration and displacement. Fertil Steril 2009 ; 92 : 536–40.

[15] McArthur SJ, Leigh D, Marshall JT, et al. Blastocyst trophectoderm biopsy and preimplantation genetic diagnosis for familial monogenic disorders and chromosomal translocations. Prenat Diagn 2008 ; 28 : 434–42.

[16] Jeffreys AJ, Wilson V, Neumann R, Keyte J. Amplification of human minisatellites by the polymerase chain reaction : towards DNA fingerprinting of single cells. Nucleic Acids Res 1988 ; 16 : 10953–71.

[17] Handyside AH, Pattinson JK, Penketh R, et al. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. Lancet 1989 ; 18 : 347–9.

[18] Ray PF, Gigarel N, Bonnefont JP, et al. First specific preimplantation genetic diagnosis for ornithine transcarbamylase deficiency. Prenat Diagn 2000 ; 20 : 1048–54.

[19] Ray PF, Frydman N, Attié T, et al. Birth of healthy female twins after preimplantation genetic diagnosis of cystic fibrosis combined with gender determination. Mol Hum Reprod 2002 ; 8 : 688–94.

[20] Gigarel N, Ray PF, Burlet P, et al. Single cell quantification of the 8993T>G NARP mitochondrial DNA mutation by fluorescent PCR. MolGenet Metab 2005 ; 84 : 289–92.

[21] Moutou C, Gardes N, Viville S. Duplex, triplex and quadruplex PCR for the preimplantation genetic diagnosis (PGD) of cystic fibrosis (CF), an exhaustive approach. Prenat Diagn 2004 ; 24 : 562–9.

[22] Moutou C, Goossens V, Coonen E, et al. ESHRE PGD Consortium data collection XII : cycles from January to December 2009 with pregnancy follow-up to October 2010. Hum Reprod 2014 ; 29 : 880–903.

[23] Staessen C, Platteau P, Van Assche E, et al. Comparison of blastocyst transfer with or without preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in couples with advanced maternal age : a prospective randomized controlled trial. Hum Reprod 2004 ; 19 : 2849–58.

[24] Staessen C, Verpoest W, Donoso P, et al. Preimplantation genetic screening does not improve delivery rate in women under the age of 36 following single-embryo transfer. Hum Reprod 2008 ; 23 : 2818–25.

[25] Blockeel C, Schutyser V, De Vos A, et al. Prospectively randomized controlled trial of PGS in IVF/ICSI patients with poor implantation. Reprod Biomed Online 2008 ; 17 : 848–54.

[26] Meyer LR, Klipstein S, Hazlett WD, et al. A prospective randomized controlled trial of preimplantation genetic screening in the 'good prognosis' patient. Fertil Steril 2009 ; 91 : 1731–8.

[27] Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG, Stevens J, et al. Preimplantation aneuploidy testing for infertile patients of advanced maternal age : a randomized prospective trial. Fertil Steril 2009 ; 92 : 157–62.

[28] Debrock S, Melotte C, Spiessens C, et al. Preimplantation genetic screening for aneuploidy of embryos after in vitro fertilization in women aged at least 35 years : a prospective randomized trial. Fertil Steril 2010 ; 93 : 364–73.

[29] Mastenbroek S, Twisk M, van Echten-Arends J, et al. In vitro fertilization with preimplantation genetic screening. N Engl J Med 2007 ; 357 : 9–17.

[30] Hardarson T, Hanson C, Lundin K, et al. Preimplantation genetic screening in women of advanced maternal age caused a decrease in clinical pregnancy rate : a randomized controlled trial. Hum Reprod 2008 ; 23 : 2806–12.

[31] Anderson RA, Pickering S. The current status of preimplantation genetic screening : british fertility society policy and practice guidelines. Hum Fertil (Camb) 2008 ; 11 : 71–5.

[32] Practice Committee of Society for Assisted Reproductive Technology, Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Preimplantation genetic testing : a Practice Committee opinion. Fertil Steril 2008 ; 90 : 36–43.

[33] Harper J, Coonen E, De Rycke M, et al. What next for preimplantation genetic screening (PGS) ? A position statement from the ESHRE PGD Consortium Steering Committee. Hum Reprod 2010 ; 25 : 821–3.

[34] Rubio C, Bellver J, Rodrigo L, et al. Preimplantation genetic screening using fluorescence in situ hybridization in patients with repetitive implantation failure and advanced maternal age : two randomized trials. Fertil Steril 2013 ; 99 : 1400–7.

[35] Rubio C, Rodrigo L, Mir P, et al. Use of array comparative genomic hybridization (array-CGH) for embryo assessment : clinical results. Fertil Steril 2013 ; 15 : 1044–8.

[36] Scott Jr. RT, Upham KM, Forman EJ, et al. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not : a randomized and paired clinical trial. Fertil Steril 2013 ; 100 : 624–30.

[37] Yang Z, Liu J, Collins GS, et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients : results from a randomized pilot study. Mol Cytogenet 2012 ; 5 : 24–9.

[38] Forman EJ, Hong KH, Ferry KM, et al. In vitro fertilization with single euploid blastocyst transfer : a randomized controlled trial. Fertil Steril 2013 ; 100 : 100–7.

Maturation *in vitro*

CHAPITRE 36

B. Salle, J. Lornage

La maturation *in vitro* (MIV) est une procédure ancienne. Pincus a obtenu une première maturation avec fertilisation d'un ovocyte chez le lapin après culture de follicules primordiaux. Cha, en 1991, a été le premier à rapporter une maturation complète de vésicules germinatives jusqu'au stade d'ovocytes en métaphase II (M II) chez l'humain. Trouson [1], en 1994, a rapporté la première naissance, après avoir récupéré des ovocytes chez une patiente atteinte d'un syndrome des ovaires micropolykystiques.

Si le concept de MIV est très séduisant à plus d'un titre, il est difficile de se faire une idée quant à la pertinence de cette procédure.

Conceptuellement, les avantages sont nombreux : pas de stimulation de l'ovulation, donc pas de traitement lourd ; coût diminué ; pas de risque de syndrome d'hyperstimulation ovarien avec sa cohorte de morbidité et de coût surajouté à une tentative de fécondation *in vitro* (FIV) classique. Cependant la diffusion de la MIV, dans toutes les équipes d'aide médicale à la reproduction, n'a jamais eu vraiment lieu.

Méthodologie clinique

La réalisation d'une MIV sur le plan clinique est assez simple. Le cycle peut être réalisé en cycle spontané ou en utilisant un FSH *(follicle-stimulating hormone) priming.* Ce dernier consiste en injections de FSH recombinante pendant 3 à 4 jours à de faibles doses. Selon les auteurs, les doses de FSH peuvent etre administrées de façon croissante ou décroissante. Il est impossible de dégager une prescription significative plus efficace que l'autre [2]. Certains auteurs préconisent un *priming* par hCG avant de réaliser la ponction folliculaire. La ponction réalisée sous anesthésie générale des petits follicules antraux entre 4 et 6 mm de diamètre permet le recueil des vésicules germinatives. Les figures 36.1 et 36.2 détaillent les acquisitions nécessaires de l'ovocyte au cours de sa maturation et le protocole de MIV [3].

Indications

Les indications sont diverses et variées. La première indication, pour laquelle la bibliographie est la plus riche, concerne les patientes ayant un syndrome des ovaires micropolykystiques. Les autres indications portent sur la MIV chez les patientes normo-ovulantes, dans le cadre de la préservation de la fertilité des mauvaises répondeuses. Enfin, il reste trois indications concernant les patientes *borderline* : absence d'ovocyte mûr malgré une stimulation normale, échecs répétés de FIV, infertilités inexpliquées.

Les patientes ayant un syndrome des ovaires micropolykystiques sont à haut risque de développer un syndrome d'hyperstimulation ovarienne après stimulation conventionnelle pour une FIV. L'alternative chez ces patientes est le recueil prématuré d'ovocytes immatures à partir de petits follicules antraux, avec ou sans stimulation, suivi par une MIV de ces ovocytes. L'avantage de la MIV consiste à éviter totalement le risque d'hyperstimulation et à diminuer le coût financier ainsi que la morbidité de la stimulation dans le cadre du syndrome des ovaires micropolykystiques (SOPK). Depuis les années 2000, les résultats sont encourageants en termes de taux de grossesses et de naissances. Les taux sont compris entre 20 et 29 %. Les publications récentes rapportent un taux de grossesses entre 32 et 44 % pour un taux de naissances entre 22 et 28 %, comparables avec les résultats de la FIV conventionnelle de 38 et 45 %. Dans une autre étude, Junk [4] proposait le transfert d'un seul

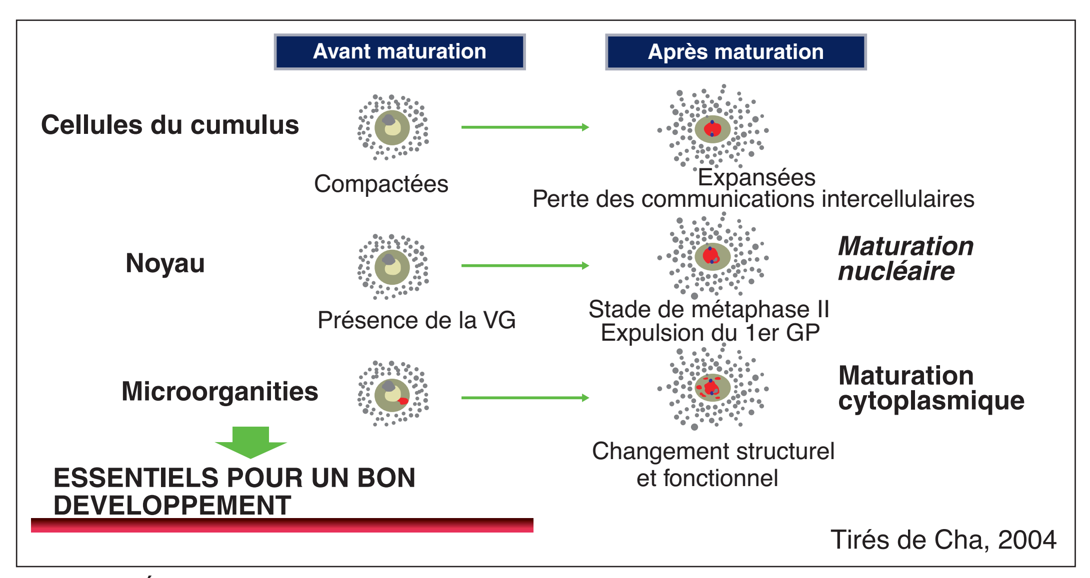


Figure 36.1 Étapes de la maturation ovocytaire.

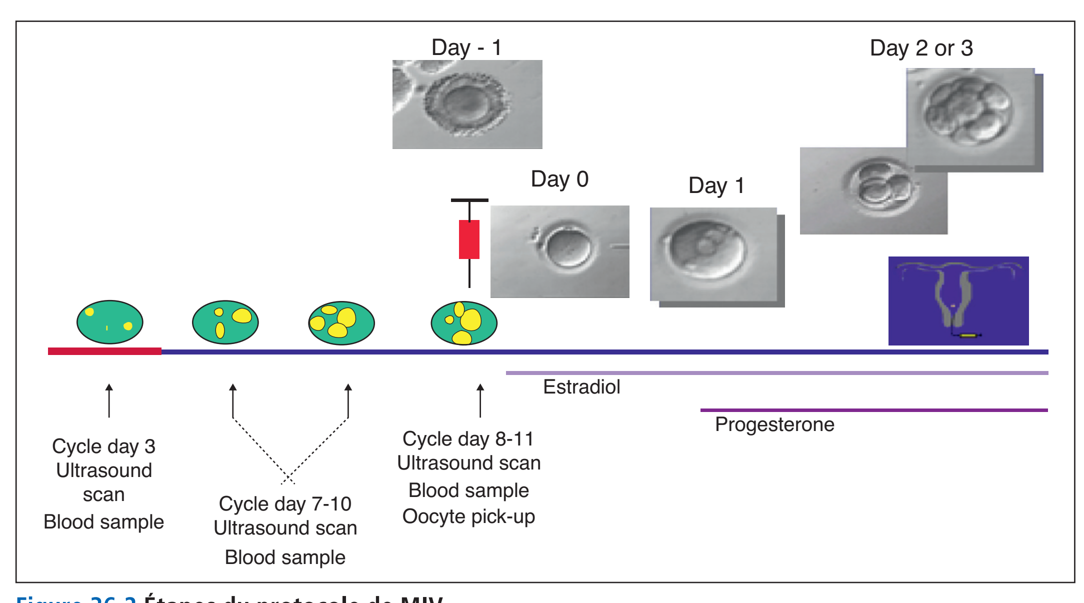


Figure 36.2 Étapes du protocole de MIV.

blastocyste après MIV chez les patientes SOPK. Il rapportait un taux de naissances de 42 % par ponction et un taux de grossesses de 45 % par transfert embryonnaire. Les modalités de monitorage varient selon les auteurs. Certains utilisent un FSH *priming* [5], d'autres déclenchent l'ovulation avant le recueil des vésicules germinatives. Il est impossible de dégager une procédure standardisée sur la base des études publiées. L'enthousiasme des publications doit cependant être tempéré par deux critiques :

- les protocoles conventionnels de stimulation de l'ovulation, avec antagoniste du GnRH *(gonadotropin-releasing hormone)* et déclenchement de l'ovulation par agoniste du GnRH, n'ont jamais été comparés à la MIV. Le déclenchement

par agoniste du GnRH, dont la durée de vie est courte, permet de réduire les risques d'hyperstimulation ovarienne. Associé à une politique de *freeze all* qui évite tout transfert frais, le declenchement par agoniste du GnRH élimine tout syndrome d'hyperstimulation ;

- la dernière Cochrane database de 2013 a identifié 120 études comparant la FIV conventionnelle avec la MIV dans le cadre des PCO ; 118 études ont été exclues, car non randomisées. La Cochrane database se refuse de conclure et de comparer la FIV conventionnelle à la MIV.

Récemment, certains auteurs proposent la MIV comme une option pour la préservation de la fertilité [6]. Les avantages avancés sont la rapidité de mise en place et l'absence de stimulation de l'ovulation [7]. La MIV peut être réalisée en urgence et cela sans retarder la mise en place des traitements anticancéreux. Les avantages de la MIV sont réellement plus importants en cas de cancers hormono-dépendants. Ceux-ci contre-indiquent des concentrations en œstradiol supraphysiologiques. Les cancers gynécologiques, spécialement le cancer du sein, en sont un bon exemple [8, 9].

Afin de réduire les délais des traitements, des équipes proposaient la MIV avec un recueil en phase lutéale. La comparaison du nombre d'ovocytes obtenus en phase lutéale ou folliculaire était identique (12,8 *versus* 17,3). Le nombre d'embryons cryoconservés était aussi identique dans les deux groupes (6,4 *versus* 7,8).

Afin d'optimiser les chances de grossesse, la MIV peut être aussi proposée en association avec la congélation ovarienne. Elle permet en plus de la congélation de tissu ovarien, de vitrifier des ovocytes en métaphase II ou la congélation embryonnaire. Il est possible d'effectuer la ponction ovocytaire soit avant l'ovariectomie soit pendant la dissection du tissu ovarien avant congélation. À ce jour, une seule grossesse a été rapportée après une MIV dans le cadre de la préservation de la fertilité [8].

Les autres indications éventuelles de la MIV sont anecdotiques. Quelques publications recensent, au cas par cas, des succès de grossesse, sans pouvoir en tirer de conclusion. Gardons en mémoire le caractère expérimental de la MIV dans ces dossiers. Il est important d'en prévenir les couples [10].

Il y a des interrogations sur les enfants issus de MIV. En effet, les études ont montré une évolution comparable et un taux de malformation identique entre les enfants nés d'une MIV ou d'une FIV conventionnelle.

Bequet *et al.*, notamment, ont confirmé ces résultats. Cependant, les complications à très long terme ne sont pas élucidées. Les modifications épigénétiques peuvent éventuellement altérer le développement embryonnaire. La MIV peut modifier la maturation normale de l'ovocyte. La question n'est pas tranchée, mais la FIV elle-même peut altérer le développement ovocytaire.

La MIV est une procédure à la fois simple et compliquée. Elle pourrait être une alternative aux procédures conventionnelles de l'aide médicale à la procréation [11]. Les indications principales sont le syndrome des ovaires micropolykystiques et la préservation de la fertilité. Les autres indications sont encore en cours d'évaluation. Peut-être que le programme de don d'ovocytes sera une troisième indication majeure.

Cependant, interrogeons-nous sur le faible recours à la MIV. D'après Grimberg, 5000 enfants seraient nés grâce à la MIV depuis ses débuts, pourcentage bien infime par rapport au nombre d'enfants nés par FIV conventionnelle [6].

Références

[1] Trounson A, Wood C, Kausche A. In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. Fertil Steril 1994 ; 62 : 353–62.

[2] Child TJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL. In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated normal ovaries, polycystic ovaries, and women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 2001 ; 76 : 936–42.

[3] Griesinger G, Kolibianakis EM, Papanikolaou EG, et al. Triggering of final oocyte maturation with gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin. Live birth after frozen-thawed embryo replacement cycles. Fertil Steril 2007 ; 88 : 616–21.

[4] Junk SM, Yeap D. Improved implantation and ongoing pregnancy rates after single-embryo transfer with an optimized protocol for in vitro oocyte maturation in women with polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 2012 ; 98 : 888–92.

[5] Chian RC, Buckett WM, Too LL, Tan SL. Pregnancies resulting from in vitro matured oocytes retrieved from patients with polycystic ovary syndrome after

priming with human chorionic gonadotropin. Fertil Steril 1999 ; 72 : 639–42.

[6] El Hachem H, Poulain M, Le Parco S, et al. GnRH agonist (GnRHa) priming increases the number of in vitro matured (IVM) oocytes available for cryopreservation in cancer patients seeking urgent fertility preservation (FP). Fertil Steril 2013 ; 100 : S118.

[7] Grynberg M, Even M, Hesters L, et al. Similar in vitro maturation (IVM) and fertilization rates of oocytes retrieved either at the follicular or the luteal phase of the cycle offers flexible options for urgent fertility preservation (FP). Fertil Steril 2012 ; 98 : S7.

[8] Chian RC, Uzelac PS, Nargund G. In vitro maturation of human immature oocytes for fertility preservation. Fertil Steril 2013 ; 99 : 1173–81.

[9] Shalom-Paz E, Almog B, Shehata F, et al. Fertility preservation for breast-cancer patients using IVM followed by oocyte or embryo vitrification. Reprod Biomed Online 2010 ; 21 : 566–71.

[10] Fadini R, Mignini Renzini M, Dal Canto M, et al. Oocyte in vitro maturation in normo-ovulatory women. Fertil Steril 2013 ; 99 : 1162–9.

[11] Chian RC, Cao YX. In vitro maturation of immature human oocytes for clinical application. Methods Mol Biol 2014 ; 1154 : 271–88.

Don d'ovocytes en France

Chapitre 37

H. Letur

Le don d'ovocytes (DO) est une technique d'assistance médicale à la procréation (AMP) qui consiste pour une femme à faire don de ses gamètes au profit d'une autre femme en vue de fécondation par le moyen de la fécondation *in vitro* (FIV). Depuis la première grossesse DO rapportée par Lutjen *et al.* en 1984 [1], de nombreuses équipes de par le monde ont effectué cette technique avec succès, avec obtention en France de la première grossesse DO en 1985.

Parallèlement, l'éthique s'est intéressée à l'intervention de la science dans le processus naturel de procréation, notamment en raison de la dissociation rendue possible de ce qui jusqu'alors était indissociable et de la problématique de la définition du « statut » de l'embryon. Dans notre pays, le Comité consultatif national d'éthique fondé en 1989 s'est penché sur ce domaine [2, 3].

Si dans ses applications contemporaines, l'éthique s'avère indissociable de la science, l'évolution de la réflexion a considéré la nécessité de l'intervention du législateur devant les progrès scientifiques. Ainsi le DO en France est encadré par les lois relatives à la bioéthique n° 94-653 et 94-654 du 29 juillet 1994 [4], révisées le 7 juillet 2004 (loi 2004-800) puis le 6 août 2011 (loi 2011-814).

Situation législative et réglementaire du don d'ovocytes en France

La loi réaffirme les principes éthiques du don : le **volontariat**, excluant de ce fait tout lien de subordination ; celui-ci est formalisé par un consentement suivant une information claire, la gratuité dans le cadre des principes du respect de la dignité humaine et de non-patrimonialité du corps humain, et l'**anonymat** avec absence de filiation entre la donneuse et l'enfant qui pourrait être issu de ce don [5]. Un accès par un praticien à des informations non identifiantes est cependant prévu en cas de nécessité thérapeutique.

Elle en rappelle les conditions de mise en œuvre : réponse à la demande d'un couple en cas de « risque de transmission d'une maladie d'une particulière gravité à l'enfant ou à un membre du couple, lorsque les techniques d'assistance médicale à la procréation au sein du couple ne peuvent aboutir, ou lorsque le couple, dûment informé des dispositions prévues à l'article L. 2141-10, y renonce » (art. L. 2141-7).

Le couple receveur doit être composé d'un homme et d'une femme, tous deux vivants et « en âge de procréer ». L'équipe médicale doit s'assurer de la stabilité de ce couple qui n'a plus à fournir depuis la dernière loi bioéthique, de preuve de mariage ni de vie commune de plus de 2 ans. Après information incluant les exigences réglementaires concernant les tests de sécurité sanitaire, l'interdiction légale du double don de gamètes ainsi que de faire naître plus de dix enfants pour un même donneur, le couple doit signer un consentement ainsi qu'une confirmation de ce consentement initial après au moins 1 mois de réflexion. Il est révocable à tout moment par l'un ou l'autre des membres du couple jusqu'au moment du don. Le couple doit également signer un consentement spécifique devant le président d'un tribunal de grande instance de son choix ou devant notaire rendant la filiation incontestable. Enfin, au titre de l'infertilité, le couple bénéficie d'une exonération du ticket modérateur auprès des caisses d'assurance maladie sous certaines conditions telles que l'âge de la femme inférieur à 43 ans.

La donneuse d'ovocytes doit être particulièrement informée des risques et contraintes liés à cette technique. Après information, son consentement et, si elle fait partie d'un couple, « celui de l'autre membre du couple sont recueillis par écrit et peuvent être révoqués jusqu'à l'utilisation des gamètes » (art. 1244-2).

La condition de primomaternité n'est plus obligatoire ; une femme sans enfants peut selon la loi bioéthique de 2011 faire don de ses ovocytes, mais doit se voir proposer dans le même temps le recueil et la conservation d'une partie de ses gamètes ou de ses tissus germinaux (art. 1244-2). Cette disposition est cependant soumise à décret d'application non encore publié à ce jour. Enfin, pour réaliser sa démarche, elle doit pouvoir bénéficier d'une autorisation d'absence de son employeur (art. 1244-5).

Des dispositions réglementaires précisent les examens complémentaires notamment les tests de sécurité sanitaire dont les résultats doivent être négatifs pour une prise en charge. Selon le décret du 24 juin 2004, un deuxième contrôle est effectué pour les virus VIH 1 et 2, les virus des hépatites B et C et cytomégalovirus (CMV), lorsque pour ce dernier le premier dépistage s'est révélé négatif, au début de la stimulation ovarienne préalable au don. En cas de positivité de l'un ou l'autre de ces marqueurs « les ovocytes ne peuvent être cédés ou le cas échéant l'embryon ne peut être transféré ». Cette disposition permet un transfert « frais » en cycle « synchronisé » entre donneuse et receveuse. Pour les frais occasionnés par le don, en vertu du décret du 24 février 2009, les donneuses bénéficient d'une exonération du ticket modérateur par l'assurance maladie. D'autres frais tels les frais de déplacement et d'hébergement sont à la charge de l'établissement de santé autorisé pour le DO sur pièces justificatives. La perte de rémunération peut être indemnisée sur la base du quadruple de l'indemnité journalière prévue par l'assurance maladie.

Le don d'ovocytes s'effectue dans des organismes à but non lucratif autorisés pour une durée de 5 ans par l'agence régionale de santé ou ARS (art. 2142-1), sous la responsabilité de médecins cliniciens et biologistes en mesure de prouver leur compétence (art. 2142-1). Un rapport annuel d'activité doit être établi pour l'ARS et L'Agence de la biomédecine ou ABM (art. 2142-2).

Indications et réalisation pratique du don d'ovocytes en France

Les indications au DO sont de deux ordres selon le caractère fonctionnel ou non des ovaires de la receveuse potentielle et sont discutées pour validation en réunion pluridisciplinaire [6]. Il importe de toujours apprécier le pronostic obstétrical, notamment dans le cadre de certaines dysgénésies gonadiques où l'existence de pathologies associées, telles des malformations cardiovasculaires méconnues, peut entraîner de sévères complications voire engager le pronostic vital [7].

Les situations d'aménorrhée primaire, ou primo-secondaire d'origine ovarienne, ou d'insuffisance ovarienne prématurée représentent environ la moitié des indications actuelles en France. La prise en charge est plus discutée lorsque la femme n'est pas ovarioprive, il peut s'agir de :

- pathologies génétiques où l'avis d'un généticien ou d'une commission spécialisée peut s'avérer indispensable ;
- contre-indications à la stimulation de l'ovulation telles certaines pathologies de la coagulation où un avis spécialisé est également souvent nécessaire ;
- exceptionnellement, contre-indications au prélèvement ovocytaire.

L'indication émergente est constituée par les échecs de fécondation *in vitro* (FIV) en intraconjugal, situation où notamment la frontière entre physiologie et pathologie peut poser de réelles difficultés d'orientation de prise en charge. Ici, le Groupe d'études pour le don d'ovocytes (GEDO) retient à ce jour de façon consensuelle les altérations marquées du fonctionnement ovarien et les anomalies ovocytaires démontrées.

La mise en œuvre du DO s'effectue en prenant en compte les dispositions légales, réglementaires et les recommandations consensuelles des sociétés savantes de praticiens.

La limite d'âge de prise en charge des couples receveurs n'est pas précisée dans la loi, l'appréciation en étant laissée à l'équipe médicale. Les praticiens exerçant dans le cadre de la FIV-DO avancent la limite du 43e anniversaire pour la femme, suivant ainsi la position de l'assurance maladie, et ce pour un transfert « frais » ; le trans-

fert d'embryon congelé décongelé n'est pas préconisé après 45 ans en raison en particulier des risques obstétricaux des grossesses tardives.

Le couple receveur sera reçu en consultation singulière au cours de laquelle : l'orientation vers le DO sera appréciée, l'information sur la technique et les modalités d'exercice du DO en France sera délivrée et un premier consentement sera recueilli. Un bilan médical, biologique et génétique est prescrit et un entretien psychologique systématiquement proposé. Seront enregistrés les caractères phénotypiques des deux membres du couple (origine ethnique, couleur de peau, taille, poids, couleur des yeux, couleur et texture des cheveux), le groupe sanguin Rhésus, le statut CMV et les éventuels facteurs de risque génétique masculins, tous éléments pris en compte pour le futur appariement avec une donneuse. Cet appariement a pour but d'éviter notamment une discordance évidente entre les caractères physiques du potentiel enfant à venir et ses parents. Le dossier complété sera réévalué en réunion pluridisciplinaire pour appréciation de tous les paramètres.

Les donneuses sont des femmes en bonne santé, de moins de 37 ans et, pour l'heure, ayant déjà un enfant. En France, elles sont majoritairement relationnelles, motivées par un couple receveur parent ou ami. Moins de 10 % d'entre elles sont « spontanées », après information médiatique généralement, ou après un don de spermatozoïdes. Plus rarement, certaines femmes déjà mères donnent une partie de la cohorte ovocytaire prélevée au cours d'une FIV pour elle-même. Après réalisation de son bilan clinico-complémentaire, et en l'absence de contre-indications, la donneuse va suivre un traitement de stimulation de l'ovulation selon les protocoles habituels de FIV, puis subir après déclenchement de l'ovulation, un prélèvement ovocytaire par voie vaginale sous contrôle échographique avec une analgésie simple ou parfois une anesthésie locale ou générale de courte durée [8, 9].

Les ovocytes recueillis peuvent être immédiatement attribués selon les critères d'appariement précités et mis en fécondation avec les spermatozoïdes préparés du conjoint de la(des) receveuse(s) préalablement choisie(s) pour bénéficier de ce don ou, selon l'article 2141-1 de la loi 2011-814, vitrifiés pour attribution et utilisation ultérieures.

Les embryons obtenus seront transférés « frais » dans l'utérus de la receveuse et/ou cryoconservés pour transfert ultérieur après décongélation.

Ce transfert nécessite des conditions locales utérines endométriales et vasculaires adéquates obtenues par une thérapeutique hormonale de substitution (THS) œstrogéno-progestéronique administrée sur un mode séquentiel associée à un traitement de désensibilisation ovarienne chez les femmes non ovarioprives. L'adjonction de progestérone est habituellement effectuée :

- pour les cycles synchronisés entre donneuse et receveuse(s), le lendemain soir du déclenchement de la donneuse si les conditions utérines le permettent ;
- dans les cycles différés dans le cadre de réchauffement ovocytaire ou de décongélation embryonnaire, 48 à 60 h avant transfert pour des embryons à J2.

Un affinement de la période de transfert peut être prévu en cas d'échecs d'implantation antérieurs par des études endométriales complémentaires [10]. De même, des traitements adjuvants peuvent être associés en cas d'insuffisance de réponse utérine au THS distribué.

Le déroulement des grossesses n'est pas différent de celui d'une grossesse conçue naturellement en termes de durée et de pourcentage de fausses couches spontanées. Cependant il nous faut souligner deux points : la nécessité de poursuivre le THS jusqu'au relais placentaire, et la surveillance attentive de ces grossesses à risque accru de troubles hypertensifs graves [11, 12]. L'hypothèse avancée de ce sur-risque serait un trouble de la placentation lié à une modification de l'immunotolérance maternelle à un embryon qui lui est totalement allogénique.

Résultats

La demande de DO concerne environ 2500 à 3000 nouveaux couples par an. Seul le quart de ceux-ci sera inscrit dans les programmes français. Dans le même temps, le nombre de prélèvements ovocytaires par an ne permet pas d'effectuer une attribution ovocytaire pour la totalité de ces nouveaux couples inscrits. Cette inadéquation entre la demande et l'offre a pour conséquence une augmentation du délai de prise en charge, augmentation à laquelle participe le temps

d'obtention du premier rendez-vous, lui-même corrélé aux moyens humains dédiés au DO souvent insuffisants. En 2012, on dénombre plus de 2000 couples en attente dans les programmes de DO français. Aussi, nombre de couples demandeurs se tournent vers l'étranger pour une prise en charge plus rapide (3 à 6 mois *versus* 12 à 48 mois).

Les résultats des tentatives effectuées sont cependant très satisfaisants avec en moyenne de 2009 à 2012, 28,4 % et 14,7 % de grossesses par transfert respectivement en cycles synchronisés (2949 tentatives) et en cycles différés (1303 cycles de décongélation) [13]. La vitrification ovocytaire dans le DO est en cours de mise en place et nécessite pour devenir performante une formation et une courbe d'apprentissage des équipes [14].

Sur le plan psychologique, les receveuses en dehors de la crainte d'un délai d'attente démesuré apparaissent peu anxieuses, tandis que les donneuses avancent une certaine pénibilité de la tentative attribuée aux contraintes logistiques. Le conjoint de la donneuse intervient au mieux dans une démarche d'accompagnement. À l'encontre, on constate une survalorisation des gamètes paternels pour le conjoint de la receveuse. L'élaboration du lien mère–enfant s'établit sans difficulté avec normalité du développement des enfants étudiés jusqu'à l'âge de 3 ans [15].

Une volonté de rectification de l'inadéquation demande/offre

Le rapport IGAS sur la situation du DO en France [16] apporte des recommandations que nous pouvons classer en quatre volets :

- améliorer l'organisation du don : l'apport de la vitrification ovocytaire est sans conteste une avancée allégeant considérablement la logistique et permettant d'envisager la création de banques d'ovocytes. À ce jour, le taux de grossesses par transfert en DO après réchauffement ovocytaire est de 14 % en France (journée nationale GEDO, 2014) et devrait s'améliorer avec la courbe d'apprentissage des centres biologiques ;
- augmenter le recrutement de donneuses en élargissant le bassin de population aux femmes sans enfants, plus jeunes que la moyenne des donneuses actuelles. Le décret d'application n° 2015-1281 de cette disposition législative est paru le 23 octobre 2015 assorti de son arrêté le 24 décembre 2015 (parution au Journal Officiel le 8 janvier 2016)[1] ;
- améliorer le financement du don : l'acte de ponction pour don d'ovocytes a été revalorisé et il est attribué aux centres de DO des aides financières au titre des missions d'intérêt général (MIG) selon le niveau d'activité pour les actes non facturables. Cette dotation par contractualisation au niveau des ARS fait encore aujourd'hui l'objet de difficulté d'attribution réelle au service qui l'a généré ;
- promouvoir le DO : la loi bioéthique de 2011 met l'accent sur la nécessité d'information dans le cadre du DO : « Les médecins gynécologues informent régulièrement leurs patientes sur le don d'ovocytes » (art. 1244-1-1), « les médecins traitants informent régulièrement leurs patients sur le don de gamètes » (art. 1244-1-2) avec mission d'information et de promotion du don de gamètes confiée à l'ABM par des campagnes plus incitatives. À ce jour, si les campagnes nationales ont eu un impact modeste, le site Internet dédié aux donneuses mis en place par l'ABM a initié une augmentation du nombre des donneuses « spontanées » auprès des centres.

Perspectives et conclusion

Le paradoxe entre l'aspect à l'évidence évolutif du progrès scientifique et de la réflexion éthique et le caractère fixé de la norme législative a été harmonisé par la notion de « législatif temporaire » en ouvrant la possibilité de révision des lois bioéthiques. Dans cette optique, certains principes pourraient être revisités : le volontariat de la donneuse reste incontournable et est incontestablement consensuel. Des réflexions sont en cours

[1] Décret n° 2015-1281 du 13 octobre 2015 relatif au don de gamètes (JO du 15/10/2015) et arrêté qui lui est corrélé : « Arrêté du 24 décembre 2015 pris en application de l'article L. 2141-1 du code de la santé publique et modifiant l'arrêté du 3 août 2010 modifiant l'arrêté du 11 avril 2008 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation » (JO du 08/01/2016).

pour la proposition de documents de consentement communs aux centres de DO délivrant une information claire et appropriée.

Si la gratuité du don est également plébiscitée, des travaux éthiques évaluent la notion d'indemnisation potentielle de la donneuse en raison de la pénibilité de la tentative.

La préservation de l'anonymat du DO est un principe éthique majoritairement souhaité en France, mais on ne peut occulter l'existence d'un militantisme pour sa levée au motif essentiellement du droit de l'enfant à connaître ses origines.

En dehors de ce triptyque, de nombreux travaux éthiques sont en cours portant notamment sur la sécurité des réseaux informatiques et la confidentialité du don, la notion d'accès à ce type de prise en charge face à la question de la non-discrimination…

L'amélioration de l'exercice du DO en France passe par la nécessité d'augmenter le nombre de donneuses « jeunes » et de renforcer les équipes médicales dédiées au DO. L'information singulière et les campagnes régulièrement renouvelées sont d'une aide précieuse, la participation de jeunes femmes sans enfants serait potentialisatrice. Outre l'amélioration du financement du don accordé, un « fléchage » des sommes délivrées s'avère nécessaire pour étoffer les équipes DO en moyens humains et matériels. La mutualisation de ces moyens, la création de réseaux, l'aide des centres privés sont autant de pistes de réflexion pour obtenir une meilleure fluidité dans l'offre de soins.

Le DO a fait la preuve de son efficacité dans la prise en charge de certaines indications de l'infertilité de couple. Pour obtenir en France une autosuffisance d'État, il importe de réévaluer les mesures proposées, de choisir de les appliquer, d'innover dans l'intérêt de nos patientes et dans le respect de la déontologie et de l'éthique.

Références

[1] Lutjen P, Trounson A, Leeton J, et al. The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. Nature 1984; 307 : 174–5.

[2] Rapport du Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé (CCNE). État actuel des études conduites par le Comité concernant les dons de gamètes et d'embryons. 15 décembre 1989.

[3] Rapport du Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé (CCNE). Avis sur l'organisation actuelle du don de gamètes et ses conséquences. 18 juillet 1990.

[4] Lois bioéthiques n° 94653 du 29 juillet 1994 relative au respect du corps humain et n° 94654 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, à l'assistance médicale à la procréation et au diagnostic prénatal. Journal Officiel 30 juillet 1994; .

[5] Letur H, Merlet F. Situation législative et réglementaire du don d'ovocytes en France. Gynécologie Obstétrique et Fertilité 2012; 40 : 28–31.

[6] Merlet F, Letur H. Où en sommes-nous du don d'ovocytes en France ? Genesis 2011; 155 : 11–5.

[7] Chevalier N, Letur H, Lelannou D, et al. and the French Study Group for oocye donation. Maternofetal cardiovascular complications in Turner syndrome after oocyte donation : insufficient prepregnancy screening and pregnancy follow up are associated with poor outcome. JCEM 2011; 96 : E260–7.

[8] Frydman R, Letur-Konirsch H, De Ziegler D, et al. A protocol for satisfying the ethical issues raised by oocyte donation : the free, anonymous and fertile donors. Fertil Steril 1990; 53 : 666–72.

[9] Letur H. Current practices of oocyte donation in France and Europe. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2007; 36 : 727–37.

[10] Haouzi D, Dechaud H, Assou S, et al. Insights into human endometrial receptivity from transcriptomic and proteomic data. Reprod Biomed Online 2012; 24 : 23–34.

[11] Van Der Hoorn ML, Lashley EE, Bianchi DW, et al. Clinical and immunologic aspects of egg donation pregnancies : a systematic review. Hum Reprod Update 2010; 16 : 704–12.

[12] Letur H. Pathologies hypertensives et grossesses issues de don d'ovocytes. Reproduction Humaine et Hormones 2013; 16 : 7–13.

[13] Rapport médical et scientifique de l'Agence de la biomédecine. 2013.

[14] Cobo A, Diaz C. Clinical application of oocyte vitrification : a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Fertil Steril 2011; 96 : 277–85.

[15] Raoul-Duval A, Letur-Konirsch H, Frydman R. Anonymous oocyte donation : a psychological study of recipients, donors and children. Hum Reprod 1992; 7 : 51–4.

[16] Aballea P, Burstin A, Guedj J. Inspection générale des affaires sociales. État des lieux et perspectives du don d'ovocytes en France; 2011.

Vers une levée de l'anonymat des donneurs de gamètes ?

Chapitre 38

L. Karpel

En 1985, la Suède levait l'anonymat des donneurs de gamètes. Plusieurs pays européens ont suivi : l'Allemagne, l'Autriche, l'Islande, la Suisse, la Norvège, les Pays-Bas, la Grande-Bretagne, la Belgique et la Finlande, en vue d'offrir aux enfants conçus grâce à un don de gamètes la possibilité d'accéder, le plus souvent à leur majorité, à des informations non identifiantes et/ou identifiantes du donneur.

Ce sont les associations composées d'enfants conçus par don de gamètes qui ont été à l'origine de ces changements. Leur détresse psychologique et le droit à la connaissance de leur histoire ont été pris en considération.

Historiquement, le don de sperme était réalisé dans le secret des cabinets médicaux et faisait l'objet de transactions financières. Le donneur, connu du seul gynécologue, était rémunéré illégalement, afin de permettre à un couple infertile de bénéficier de ses gamètes. Dans ce contexte, la création des centres d'étude et de conservation des œufs et du sperme humains (CECOS) a bouleversé ces pratiques illégales et a permis de mettre en œuvre des dons de sperme dans un cadre institutionnel. La création des CECOS date de 1973, bien avant les lois de bioéthiques de 1994. Avant 1994, l'organisation du don à double guichet était répandue en France et dans le monde. Cela permettait aux couples de choisir entre une donneuse connue d'eux qui leur donnait directement ses ovocytes ou une donneuse inconnue du couple qui donnait ses ovocytes. Cette dernière méthode prévaut aujourd'hui. La France n'a donc pas toujours été fermée à la connaissance de la donneuse. Cependant, ce système du double guichet a été abandonné au profit d'un don uniquement indirect. Les conséquences sur la famille formée par un don direct, dans laquelle la tante de l'enfant pouvait aussi la « mère génétique », ont retenu l'attention des législateurs. Dans ce cas, l'intérêt de l'enfant et de sa famille a été privilégié.

À la création des CECOS, le modèle d'une procréation dans le secret a été le seul modèle envisagé. Il s'agissait avant tout de rendre une pratique illégale et privée, légale et publique. De ce fait, le modèle du donneur anonyme, n'ayant quasiment pas d'existence a prévalu : le modèle du « ni vu, ni connu ». Il s'agissait de préserver le mariage, la virilité des hommes, la bienséance et les apparences. En effet, en toute apparence, un couple hétérosexuel, lié maritalement, pouvait ainsi enfanter sans révéler le drame de l'infertilité masculine. Le don direct a été réalisé surtout dans le don d'ovocytes, comme si l'infertilité féminine était plus pensable et acceptable que l'infertilité masculine. Aujourd'hui encore, l'infertilité masculine fait partie des tabous absolus de notre société. Ce tabou est le plus puissant des freins à la levée de l'anonymat dans le don de gamètes, qui n'est d'ailleurs pensé qu'à partir du don de sperme et non du don d'ovocytes. Toutes les études le montrent : ce sont les pères dont les enfants ont été conçus grâce à un don de sperme qui ont le plus grand mal à en parler à leur enfant. Plus leur enfant est âgé, plus la difficulté est grande. La honte associée à l'infertilité masculine, confondue avec l'impuissance dans l'esprit de certains, y compris de ces pères, freine même la révélation du recours au don de sperme. Certaines études montrent d'ailleurs que les enfants reprennent ce tabou à leur compte car,

s'ils sont informés tardivement, ils en veulent plus souvent à leur mère qu'à leur père de leur avoir caché la vérité.

À titre de psychologue, nous défendons le droit de l'enfant à connaître toute son histoire. Nous savons qu'au fil des années, la proportion des parents ayant dit la vérité à leurs enfants sur le don de gamètes a augmenté. D'ailleurs, plus les États maintiennent l'anonymat à tout prix, plus les parents suivent cette tendance au secret dans leur propre famille. Plus l'État est en faveur d'une levée de l'anonymat, plus les familles ont tendance à en parler à leur enfant. L'exemple suédois est édifiant sur ce point. Les mentalités ont évolué en même temps que la législation. En 2000, seuls 11 % des parents avaient informé leurs enfants. En 2007, ils étaient 67 %. En 2011, 90 % étaient convaincus du bien-fondé de la révélation à leurs enfants. Ces résultats s'opposent à l'idée répandue que la possibilité d'accès au nom du donneur fermera les parents quant à la révélation du recours au don.

Plusieurs arguments psychologiques sont en faveur de la révélation à l'enfant et de la levée de l'anonymat du don de gamètes.

Les mentalités ont changé et évolué. Alors que l'on prescrivait le secret à faire à l'enfant en cas de don de gamètes, les médecins de procréation médicalement assistée (PMA) et des CECOS en particulier favorisent le parler vrai à l'enfant et ce depuis le plus jeune âge. Cette connaissance de l'existence d'un donneur dans leur histoire ouvre des questions chez l'enfant concernant l'identité du donneur.

Le couple se taisant prend le risque que le secret soit éventé par d'autres membres de la famille, lors d'une dispute ou d'un divorce du couple parental, ce qui peut blesser l'enfant.

L'enfant comprend toujours qu'un secret se trame derrière son dos le concernant. L'ouvrage de Jean-Loup Clément à cet égard est édifiant. Les enfants, ignorant de la vérité, ont tous construit une vérité substitutive fantasmée, en général, une relation adultérine de la mère. Il apparaît que lorsque la vérité est révélée tardivement, l'enfant a tendance à s'arrimer à sa propre construction sans pouvoir croire à la vérité du don de gamètes.

L'enfant ignorant l'identité du donneur s'invente toujours un personnage plus ou moins menaçant ou sympathique. Il n'existe pas d'enfant informé du don de gamètes qui ne se pose la question de l'identité du donneur. Le terme d'identité est au sens large, toute composante partielle ou entière du donneur.

La plupart des enfants nés du don ont mentionné le risque d'inceste avec un demi-frère ou demi-sœur, enfants du donneur ou issus de son don. En France, un donneur doit être père et son don peut servir à la naissance de dix enfants dans la même région. Même en ignorant la qualité de frère ou de sœur, il s'agirait d'inceste. Il a pu être dit que l'interdit de l'inceste était d'abord symbolique, ce qui est une distorsion du message psychanalytique. L'interdit de l'inceste porte d'abord sur nos proches biologiques et dans un deuxième temps de manière symbolique avec ceux avec lesquels nous faisons famille.

Un autre argument est de penser que la levée de l'anonymat concernerait les parents infertiles au moment du choix du donneur. Le risque serait que le parent choisisse le(la) donneur(donneuse) selon des critères physiques ou intellectuels, ce qui pourrait s'apparenter à de l'eugénisme. Or, dans un système organisé, il apparaît important que l'anonymat du donneur persiste pour le couple infertile et ne soit levé qu'à la demande de l'enfant concerné.

La vérité concernant le donneur revient surtout à l'enfant et non au parent. Car autant pour le parent, le don de gamètes aura été un moyen, alors que pour l'enfant il s'agit d'une fin. En effet, un couple accepte les gamètes d'un(e) donneur(donneuse) pour procréer mais c'est l'enfant qui gardera à vie une moitié de son capital génétique inconnu qu'il transmettra en enfantant.

Advient alors la question de la ressemblance. Malgré l'appareillage des donneurs ou donneuses selon les critères phénotypiques de l'homme ou de la femme infertile, l'enfant peut à la naissance soit complètement ressembler au parent fertile, soit être un mélange du parent fertile et du donneur, soit ressembler uniquement au donneur. Les questions d'identité s'arriment également à la ressemblance. Le jeu des ressemblances est un jeu nécessaire au petit âge, à l'adolescence et à l'âge adulte pour s'apparenter à une famille, à une origine géographique, ethnique, religieuse. Elle n'est pas une question neutre. Parmi les enfants nés du don, nombreux sont ceux qui ne souhaitent qu'une photographie du donneur afin d'associer tel trait de leur visage à celui du donneur.

Nous sommes en passe de changer notre regard : de la protection du parent infertile (en particulier de l'homme stérile) à la protection de l'enfant. Nous admettons tous les effets délétères des secrets de famille sur le bon développement de l'enfant.

Il s'agit aussi d'un problème d'organisation du pouvoir public et de la démocratie. Quand un État, une organisation détient sur vous ou vos enfants des informations auxquelles vous n'avez pas accès, il s'agit d'une organisation non démocratique pour ces citoyens. Les enfants conçus par don de gamètes ne sont pas des citoyens de seconde zone. Ils méritent les mêmes droits que les autres citoyens. Il serait étrange que l'identité d'une femme qui a fait un acte violent d'abandon puisse être communiquée à un enfant adopté, tandis que l'identité d'un individu qui a fait un acte généreux de don de gamètes soit cachée à l'enfant devenu adulte.

Qui voudra connaître le donneur ? Comme dans le cas de l'accouchement sous X, après un engouement, il est possible que leur nombre ne soit pas élevé. On estime à 25 demandes par an, adressées aux CECOS en France, d'enfants conçus par don souhaitant obtenir des informations sur le donneur, quand bien même ceux-ci savent bien que la loi ne les y autorise pas. Ce nombre pourrait être démultiplié si la loi les y autorisait. En Suède, seul un enfant a fait une telle demande en 2011 soit 16 ans après la loi sur la levée de l'anonymat. Aux États-Unis, leur nombre est plus important. Le don de gamètes y a été organisé sur le mode payant et un seul donneur peut permettre la naissance de 55 enfants ! De surcroît, les études américaines montrent que ce sont les enfants de mères célibataires et de femmes homosexuelles qui sont les plus demandeurs de connaître le donneur, peut-être en quête d'une figure paternelle.

Les enfants nés d'un don de gamètes en France ne sont pas en quête de figure paternelle. Leur père est étrangement certain car au-delà de la biologie, il a posé un acte de reconnaissance à l'égard de cet enfant, juridiquement, même avant sa naissance.

Le meilleur acte de reconnaissance serait que ces pères affirment haut et fort à leur enfant leur infertilité, la cause de cette dernière et le recours au don de gamètes. Le père certain ne devrait pas s'inquiéter de la saine curiosité de son enfant à l'égard du donneur. Cela ne devrait pas troubler sa paternité sauf si finalement son infertilité n'a jamais été tolérée et le choix du don jamais assumé. Ce n'est pas aux enfants d'assumer les choix procréatifs de leurs parents mais aux parents d'assumer à vie ce choix procréatif à l'égard de leurs enfants conçus grâce à un don.

Bibliographie

Beeson DR, Jennings PK, Kramer W. Offspring searching for their sperm donors : how family shapes the process. Human reproduction 2011 ; 26 : 2415–24.

Blake L, Javda V, Golombok S. Parents psychological adjustment, donor conception and disclosure : a follow up over 10 years. Human Reproduction 2014 ; 29 : 2487–96.

Clément JL. Mon père, c'est mon père, l'histoire singulière des enfants conçus par insémination avec donneurs de sperme. Paris : L'Harmattan ; 2012.

Javda V, Freeman T, Kramer W, Golombok S. The experiences of adolescents and adults conceived by sperm donation : comparisons by age of disclosure and family type. Human reproduction 2009 ; 24 : 1909–19.

Don et accueil d'embryons

Chapitre 39

J. Montagut

Le don puis l'accueil d'embryons représentent la seule réponse médicalement assistée aux rares couples présentant une double stérilité. Ils engagent le médecin, le juge et les couples concernés dans des dispositions spécifiques issues de notre droit en matière de bioéthique.

Vingt ans d'histoire

Cette assistance médicale à la procréation (AMP) est reconnue pour la première fois dans la loi de bioéthique de 1994. Par analogie au don de gamètes et plus globalement au don de tout élément du corps humain, le don d'embryons est gratuit et anonyme.

La loi instaure cependant l'obligation d'une décision judiciaire par le tribunal de grande instance compétent faisant suite à l'indication posée par l'équipe médicale, une première dans l'histoire de la médecine, rapprochant la procédure d'accueil d'embryons de celle de l'adoption d'un enfant. Les dispositions de cette première loi ont été hélas insuffisantes pour que les équipes engagent leur responsabilité du fait de règles d'appariement insuffisamment définies entre couples donneur et receveur.

L'année 2004 compte à double titre dans l'histoire de l'accueil d'embryons en France. Notre équipe a été à l'origine de la première naissance française, Clara, et un nouveau texte de loi est venu clarifier la position du législateur, après 10 ans d'attente.

Il en ressort notamment que tout embryon en rupture de projet parental est susceptible d'accueil lorsque le couple géniteur en fait la demande et que le couple receveur, dûment informé des risques encourus pour l'enfant à naître, y consent. En limitant à cinq années la durée de conservation d'embryons donnés à un tiers anonyme, le législateur souhaite légitimement éviter une conservation inutile d'embryons mais écarte par ce biais de nombreux embryons préalablement dédiés à cette finalité.

Ces avancées incontestables s'accompagnent d'un recul incompréhensible : celui de réserver les activités non lucratives d'accueil d'embryons aux seuls établissements de santé publics (ou privés à but non lucratif), écartant depuis 2006 les laboratoires d'analyses médicales préalablement autorisés à l'accueil d'embryons. Les avis divergent sur l'hypothèse d'un oubli dans le texte ou d'une discrimination délibérée : aucune trace de débat parlementaire, ni en 2004 ni en 2011, n'est retrouvée sur le sujet. Cette disposition n'est pas sans conséquences sur l'activité. Selon l'Agence de la biomédecine (ABM), « dans 13 régions de France, aucun centre n'a encore mis en œuvre l'accueil d'embryons et cependant, les centres disposent d'embryons conservés pour lesquels les couples ont consenti à ce qu'ils soient accueillis. La collaboration n'est pas encore totalement effective entre les centres » [1].

Procédure du don d'embryons

Il s'agit d'embryons en rupture de projet parental et pour lequel le couple géniteur souhaite son accueil par un couple tiers stérile plutôt que l'arrêt de sa conservation, associé ou non à une recherche. Dans la grande majorité des cas de don d'embryons, le couple a déjà satisfait son projet parental. Ainsi, la majorité des enfants nés suite à un accueil

d'embryon ont une fratrie qui vit, contrairement à eux, avec ses parents biologiques. Les autres cas de don d'embryons relèvent du cadre social défini par la loi de bioéthique. Lorsque la vie ou la mort sépare les deux membres d'un couple, l'embryon ne peut être accueilli par le membre survivant : ni par elle et *a fortiori* ni par lui (la gestation pour autrui est interdite). Ceci renvoie aux débats récurrents du transfert d'embryons *post mortem* et aux divergences de positions entre notamment le Comité consultatif national d'éthique qui y est favorable sous certaines conditions et l'opposition du législateur à travers les trois lois de bioéthique (1994, 2004, 2011). Le membre survivant peut ainsi décider de donner son embryon à un couple d'accueil plutôt que ne soit arrêtée, au titre de la loi, sa conservation.

Au cours des entretiens préalables à la décision, le couple donneur doit être suffisamment éclairé sur les effets de l'annonce à ses enfants d'une potentielle fratrie « anonyme », puisque, par sa volonté, son projet parental concernant des embryons issus de la même fécondation *in vitro* a été transféré à un autre couple. C'est une singularité au regard du don de gamètes : la seule situation où couple donneur et couple receveur ont des enfants de la même origine biologique. Cet élément rapproche l'accueil d'embryons de l'adoption lorsqu'une même fratrie se trouve séparée. Certains s'interrogent à ce titre sur une levée possible, à titre dérogatoire, du principe de l'anonymat absolu et réciproque du don, tel qu'il est inscrit dans notre droit. Bien que très différentes, les situations de l'adoption, de l'accouchement sous X et de l'accueil d'embryons procèdent toutes de l'abandon délibéré du projet parental initial. L'absence de recul sur cette pratique incite, dans la mesure du possible, au suivi d'un éventuel retentissement psychologique sur les enfants et sur l'environnement familial du couple donneur.

Le tiers donneur d'embryon peut se voir refuser cette possibilité pour des raisons médicales et/ou réglementaires. Il s'agit d'un risque viral, génétique ou autre, accepté par le couple pour sa propre progéniture mais que l'équipe considère déraisonnable pour le couple d'accueil. Le critère de l'âge de moins de 38 ans pour la femme et de moins de 45 ans pour l'homme exclut, sauf exception, de la possibilité d'accueil tout embryon dont les géniteurs ne répondraient pas à ces critères. Il n'existe aucun chiffre officiel publié sur le nombre de demandes de dons d'embryons refusées en France ni sur les causes de ces refus par les équipes autorisées.

Lorsqu'un couple choisit de donner anonymement un embryon à un couple stérile plutôt qu'à la recherche, c'est souvent par compassion et solidarité, pour avoir, lui aussi, connu la souffrance de l'infertilité et parce qu'il sait qu'il n'y a pas d'autre alternative que l'accueil d'embryon pour le couple qui en relève et qui veut vivre une grossesse et une naissance. Plus rare est le choix de conviction justifiant que le don est la solution la moins pire pour un embryon en rupture de projet parental.

La relation de confiance avec l'équipe qui a pris en charge la fécondation *in vitro* du couple donneur et la cryoconservation des embryons dits « surnuméraires » est d'une importance considérable dans la décision de don à un couple stérile, particulièrement si cette équipe pratique l'accueil d'embryons. Dans le cas contraire, le tiers donneur d'embryons peut devoir confier ses embryons à une autre équipe que celle qui les a assistés et conduits à l'accomplissement de leur projet d'enfant. L'équipe non autorisée par la loi et celle refusant de pratiquer l'accueil d'embryons doivent se lier par convention à une équipe autorisée à l'accueil d'embryons. L'obligation pour le couple donneur de se tourner vers une équipe autorisée, un nouveau parcours imposé dans plus de la moitié des cas, est susceptible de le dissuader de la démarche. Ce facteur ne peut qu'aggraver la pénurie de tiers donneur d'embryons par rapport aux besoins, comme en témoignent les bilans annuels d'activités publiés par l'ABM [1].

Les étapes pour le tiers donneur (couple ou membre survivant) sont les suivantes :

- un premier entretien avec au moins un membre de l'équipe pluridisciplinaire en charge de la conservation du ou des embryons au cours duquel est délivrée l'information sur les conditions et les contraintes liées à la procédure d'accueil d'embryons. Un entretien avec un psychologue ou un psychiatre de l'équipe est recommandé. Le document réglementaire de consentement est remis et sera signé pour confirmation dans un délai de 3 mois. Les sérologies réglementaires au-delà de 6 mois après la conservation embryonnaire sont prescrites en cas de non-réalisation préalable ;

- l'équipe s'assure qu'il n'y a pas de contre-indication réglementaire ou médicale au don d'embryons. S'il est considéré comme recevable, il est adressé le cas échéant à l'équipe autorisée à l'accueil d'embryons. Dans ce cas, l'équipe s'assurera, à son tour, de l'acceptabilité du dossier et si besoin d'investigations complémentaires. Le document réglementaire de consentement renouvelé après 3 mois de réflexion lui est remis par le couple ou le membre survivant. Il est adressé en double exemplaire par un praticien agréé du centre au président du tribunal de grande instance dont il relève selon sa localisation;
- l'exemplaire du document retourné visé par le président du tribunal de grande instance ou son délégué est conservé dans le centre;
- le centre autorisé pour la mise en œuvre de l'accueil d'embryons conserve dans un dossier confidentiel les informations relatives au couple sous forme rendue anonyme.

Procédure d'accueil d'embryons

L'accueil d'embryons relève de la décision médicale de l'équipe pluridisciplinaire mais aussi de la décision du juge compétent validant les conditions psychologiques et sociales de l'accueil. Si l'indépendance des deux décisions va de soi, le fondement éthique de ces deux démarches complémentaires incite les bonnes volontés à collaborer, ce qui fut le cas de notre équipe avec le tribunal de grande instance de Toulouse dès 2003 [2].

L'indication d'accueil d'embryons est la situation où l'homme et la femme sont tous les deux stériles ou dépourvus de gamètes susceptibles de conduire à la naissance d'un enfant en bonne santé.

Si ce couple, dont le désir d'enfant a été souvent mis à l'épreuve d'un parcours long et douloureux, désire vivre une grossesse et un accouchement, comme les autres et sous le regard des autres, aucune autre possibilité n'est envisageable. En effet, le double don de gamètes n'est pas autorisé en France, contrairement à tous les pays autorisant le don de gamètes, à l'exception de l'Islande et de la Slovénie. Si le double don de gamètes était autorisé en France, la pénurie de donneuses d'ovocytes, inégalée dans les autres pays autorisant le don d'ovocytes, ne pourrait que s'accentuer détournant le don d'ovocytes au profit du don d'embryons.

Les étapes pour le couple d'accueil sont les suivantes :

- préalablement à la décision de l'équipe clinicobiologique, plusieurs entretiens sont prévus dont un est recommandé avec un psychiatre ou un psychologue;
- une fois l'indication médicale d'accueil d'embryons posée, le couple est invité à se présenter au tribunal de grande instance dont l'équipe en charge de l'accueil relève selon sa domiciliation. Le clinicien en charge de sa mise en œuvre atteste dans un document que le couple remplit bien l'ensemble des conditions requises. Une copie de ce document est transmise au président du tribunal de grande instance concerné;
- le magistrat, à moins qu'il ne décide de statuer par courrier, reçoit le couple d'accueil pour l'informer sur l'anonymat quant à l'origine et l'utilisation de l'embryon et sur les incidences de cette procédure quant aux règles sur la filiation;
- avant d'autoriser l'accueil en le notifiant par lettre recommandée avec accusé de réception, le juge doit procéder à toutes investigations permettant d'apprécier les conditions d'accueil par le couple sur les plans familial, éducatif et psychologique. Si nécessaire, il peut ordonner une mesure d'instruction (enquête sociale). Il est cohérent de penser que le recours à cette mesure ne soit que supplétif, le magistrat évaluant lui-même les conditions d'accueil grâce à une procédure réfléchie et en concertation avec l'équipe médicale;
- dès lors que la décision judiciaire répond favorablement au couple et que l'équipe en est informée, la procédure d'attribution embryonnaire peut se mettre immédiatement en place. Elle tient compte des risques pour l'enfant à naître, particulièrement s'il est connu chez le couple donneur : un risque élevé de transmission d'une maladie génétique accessible ou non au diagnostic prénatal, un antécédent de malformation majeure dans la fratrie ou d'une interruption médicale de grossesse pour la même raison;

- le couple d'accueil est informé, préalablement à son consentement, de tout risque connu et encouru ainsi que de l'âge de la femme s'il est supérieur à 37 ans ou de l'homme s'il est supérieur à 45 ans au moment de la conception de l'embryon. Bien que cette situation soit réputée comme exceptionnelle, il peut refuser l'attribution à la lumière des informations (non identifiantes) cliniques et biologiques qui lui sont présentées sur le couple géniteur.

Le transfert d'embryon peut être réalisé dès le cycle qui suit ce consentement, dans le respect des conditions réglementaires en vigueur. L'arrêté ministériel du 11 avril 2008 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'AMP précise que « le biologiste agréé pour la conservation des embryons en vue de leur accueil remet l'embryon conservé au biologiste qui assure l'accueil de l'embryon, si le centre est différent. Dans ce cas, les embryons conservés sont remis avec un document anonyme précisant les résultats des tests sanitaires relatifs aux donneurs, la provenance des embryons et toutes les informations utiles à l'accueil par le couple ».

Sur un plan psychologique, la question du secret et de l'anonymat vis-à-vis de l'enfant à naître doit être ici aussi préalablement abordée. La probabilité est plus forte pour lui (que pour l'enfant du couple donneur) d'avoir une fratrie biologique prise en charge, connue et reconnue par ses parents biologiques. En France, la primauté et la stabilité de la filiation sociale lui sont assurées au même titre qu'à l'enfant issu d'un don de gamètes. Elle est même qualitativement renforcée par la décision du juge vis-à-vis de ses parents d'accueil. Mais il est privé de la liberté d'accéder à ses origines biologiques personnelles et à leurs données nominatives, ce qui le place dans une situation inégalitaire par rapport à sa propre fratrie biologique, ce qui pourrait aussi renforcer plus tard sa détermination à la quête de ses origines. Il appartient au seul législateur d'apprécier, comme dans la loi du 22 janvier 2002 pour l'accouchement sous X, si les enfants issus d'un accueil d'embryon et par voie de conséquence leur probable fratrie relèvent d'une levée possible de l'anonymat dans le cadre d'un régime dérogatoire confié par exemple au Conseil national pour l'accès aux origines personnelles (CNAOP).

Résultats

Le rapport annuel 2013 de l'ABM mentionne que la part des enfants nés en 2012 après AMP avec accueil d'embryon est de 1/1000, soit 29 enfants sur 23 887.

Elle mentionne que « cette activité à procédure complexe et très encadrée » reste faible en 2012.

Le tableau 39.1 du rapport d'activités 2013 de l'ABM montre que le nombre de couples en attente « officielle » d'accueil augmente d'année en année et que l'écart se creuse avec le nombre de couples bénéficiant d'un accueil d'embryon [3].

La synthèse des rapports d'inspection transmise à l'ABM, dans son édition 2014, considère que « cette activité ne se développe que très lentement pour des raisons psychologiques, juridiques et techniques et nécessite un engagement fort des équipes et un réseau s'agissant des embryons donnés en vue de leur accueil ».

Perspectives du don et de l'accueil d'embryons en France

Peu d'équipes pratiquent de façon effective l'accueil d'embryons en France du fait de la complexité des procédures. Au 31 décembre 2013, les agences régionales de santé décomptaient 105 établissements autorisés aux activités d'AMP avec une répartition sensiblement égale « public/privé ». Seules, 16 équipes de secteur public ont déclaré une activité d'accueil d'embryons en 2011. Il est raisonnable de penser que la réouverture au secteur privé de l'accueil d'embryons permettrait de doubler l'offre de soins.

L'amélioration de cette offre de soins passe par le distinguo qui s'impose entre la gestion des procédures et les aspects clinico-biologiques qui relèvent des pratiques les plus élémentaires de toute équipe d'AMP : la conservation d'embryons et le transfert d'embryons après décongélation.

Cependant, la généralisation de la vitrification embryonnaire en lieu et place de la congélation lente peut conduire à des difficultés liées à la diversité des méthodes utilisées d'un laboratoire à l'autre. La dévitrification fait appel au même milieu que celui de la vitrification préalable. Rien n'est moins sûr qu'un laboratoire puisse être en

Tableau 39.1 Accueil d'embryons de 2009 à 2012.

	2009	2010	2011	2012
Couples donneurs				
Couples ayant confié leurs embryons à l'accueil	151	116	220	143
Couples dont les embryons ont été accueillis	82	82	70	131
Couples receveurs				
Couples ayant bénéficié d'un accueil d'embryons	88	95	74	117
Couples en attente officielle d'accueil au 31/12 de l'année	90	94	118	173

Source : rapport d'activités 2013 [3].

mesure de dévitrifier avec la même méthode un embryon vitrifié par un autre laboratoire. Aucune donnée n'est encore disponible sur le taux de survie embryonnaire selon que la décongélation est réalisée par le même laboratoire ou par un autre laboratoire. D'inextricables problèmes de responsabilité médico-légale pourraient être un jour soulevés du fait d'une multiplication inutile des intervenants : en cas d'anomalie de l'enfant né, qui de ceux qui ont conçu et congelé l'embryon, qui l'ont transporté, qui l'ont conservé et décongelé avant son accueil pourraient être mis en cause ?

La gestion des procédures pourrait relever plus rationnellement des compétences de l'ABM dont l'une des missions est de promouvoir le don de gamètes et d'embryons, ce qu'elle fait par la publication de brochures d'information pour les couples donneurs ainsi que pour les couples d'accueil d'embryons. En concertation avec le ministère de la Justice pour la partie judiciaire, elle pourrait, comme elle le fait déjà pour les activités de greffe d'organes et de tissus, mettre en place des procédures efficaces jusqu'à l'attribution des embryons relevant d'accueil. Leur transfert décidé à l'échelle régionale ou nationale des registres se ferait par l'équipe dont le laboratoire a la responsabilité de conserver l'(s) embryon(s) attribué(s) et aurait celle de le(s) dévitrifier.

Pour conclure, l'accueil d'embryons est non seulement la seule AMP qui répond aux doubles stérilités mais aussi la procédure la moins coûteuse. Il relève d'une coopération entre l'équipe médicale et l'équipe judiciaire, qui sont soucieuses de répondre ensemble, dans le respect de la loi, à la souffrance de ceux qui n'ont pas d'autre solution palliative pour mettre au monde un enfant que le recours au don et à l'accueil d'embryons. Il relève aussi de la participation solidaire de toutes les équipes d'AMP à une gestion mutualisée des données au nom des valeurs éthiques qui fondent en France le don puis l'accueil d'embryons.

Références

[1] Rapport annuel 2013 de l'Agence de la biomédecine. ABM ; 2014. En ligne http://www.agence-biomedecine.fr/rapport-annuel-2013.

[2] Montagut J. Le don et l'accueil de l'embryon. In : Frydman R, Szejer M, editors. Dir. Encyclopédie de la naissance à la lumière des sciences humaines. Paris : Albin Michel ; 2010. p. 673–8.

[3] Synthèse des rapports d'inspection des activités d'AMP transmis à l'Agence de la biomédecine en 2013. ABM ; 2014. En ligne : http://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/synthese_rapports_inspection_amp2014.pdf.

CHAPITRE 40

Prise en charge en assistance médicale à la procréation pour les couples sérodiscordants

A. Benammar, L. Boistot, X. Ferraretto, M.-A. Llabador De Royer, M. Lemoine, C. Patrat

En France, la prise en charge d'un couple sollicitant une assistance médicale à la procréation (AMP) dont au moins l'un des deux partenaires présente une infection virale à VIH (virus de l'immunodéficience humaine), VHC (virus de l'hépatite C) et/ou VHB (virus de l'hépatite B) obéit aux recommandations décrites dans l'arrêté des bonnes pratiques en AMP du 3 août 2010 [1]. Elle doit se faire dans un circuit spécifique à risque viral. Elle implique une équipe multidisciplinaire associant, outre l'équipe clinico-biologique d'AMP, un virologue, un infectiologue et/ou un hépatologue. Cette activité est exercée dans un établissement l'ayant déclarée à l'Agence de la biomédecine (ABM). La préparation, la mise en fécondation et la culture des gamètes et des embryons sont effectuées dans le circuit à risque viral, qu'il soit organisé dans des locaux spécifiques ou de façon décalée dans le temps. Le couple doit répondre à des critères de recevabilité de sa demande qui sont communs à tous les couples pris en charge en AMP [1]. Certaines dispositions particulières sont spécifiques au statut viral d'au moins l'un des deux partenaires et sont décrites ci-dessous.

Couples sérodiscordants pour le VIH

Rappel épidémiologique sur la transmission du VIH

Près de 35 millions de personnes sont infectées par le VIH dans le monde. Environ 85 % d'entre elles sont en âge de procréer. Actuellement, la transmission par voie sexuelle est à l'origine de plus de 80 % des nouvelles infections par le VIH dans le monde. Le risque de transmission hétérosexuelle augmente avec la charge virale de la personne infectée et dépend du stade évolutif de l'infection VIH. La transmission mère–enfant survient principalement pendant le dernier trimestre de la grossesse, lors de l'accouchement et de l'allaitement. En l'absence de traitement préventif, elle varie de 25 à 50 % ; avec le traitement préventif, elle diminue à moins de 3 %.

L'utilisation à grande échelle des thérapies antirétrovirales combinées a considérablement amélioré la qualité de vie des patients infectés par le VIH. Elle leur a permis de reconsidérer leur désir d'enfant jusque-là amputé par une espérance de vie très faible et la crainte de contamination du partenaire et/ou de l'enfant à naître [2].

Infertilité

Place de la procréation naturelle pour les couples sérodiscordants infectés par le VIH

Des données récentes montrent que le risque de transmission du VIH du partenaire non infecté est diminué lorsque le patient infecté a reçu un traitement antirétroviral précoce [3] et que la charge virale plasmatique du VIH est inférieure à 400 copies/mL [4]. Dans ce contexte, la procréation naturelle par des rapports non protégés ciblés sur la fenêtre ovulatoire peut être proposée à certains couples. Cette pratique doit être encadrée par une équipe spécialisée qui s'assure de l'absence d'inflammation ou d'infection génitale des deux membres du couple, des bonnes réponses et observances au traitement antirétroviral et informe le couple du risque théorique de transmission du VIH au partenaire séronégatif. Dans ce cadre spécifique, la procréation naturelle est désormais considérée comme une alternative à l'AMP [5].

Assistance médicale à la procréation en contexte VIH

À ce jour, il existe deux indications de prise en charge en AMP des couples sérodiscordants ou séroconcordants pour le VIH :

- absence ou proscription de rapports sexuels non protégés au sein du couple, sans cause d'infertilité documentée ou diagnostiquée. Dans cette situation, l'objectif principal de la médicalisation de la conception est la prévention de la transmission sexuelle de l'infection au sein du couple ;
- infertilité avérée, nécessitant d'emblée un accompagnement médical de la procréation, que le couple ait ou non des rapports sexuels non protégés.

Les dispositions particulières spécifiques relatives à l'AMP dans un contexte de séropositivité au VIH sont les suivantes :

- engagement du couple à une sexualité protégée ;
- suivi régulier de l'infection à VIH, traité ou non, sans pathologie grave évolutive ;
- nombre de lymphocytes CD4 > 200/mm^3, sauf exception médicalement justifiée, sur deux prélèvements espacés de 3 mois et dans les 6 mois précédant l'AMP ;
- en cas de traitement par antirétroviraux, ARN VIH plasmatique contrôlé et stable dans les 6 mois précédant l'AMP ;
- le partenaire doit être séronégatif pour le VIH dans les 15 jours précédant l'AMP.

Particularités de la prise en charge des couples sérodiscordants dont l'homme est infecté par le VIH

La prise en charge des couples sérodiscordants dont l'homme est infecté par le VIH a débuté dans les années 1990 avec la publication de 101 cycles d'insémination intra-utérine (IIU) [6]. En France, c'est en 1999 (arrêté du 12 janvier 1999) que la prise en charge en AMP d'hommes infectés par le VIH a été autorisée, dans le cadre d'un protocole de type loi Huriet. Actuellement dans la majorité des pays, le choix de la technique (IIU, fécondation *in vitro* classique ou FIVc, *intracytoplasmicsperm injection* ou ICSI) se fait selon l'étiologie de l'infertilité et les paramètres spermatiques.

Dans le sperme, le VIH peut être retrouvé dans le plasma séminal (ps) sous forme de particules virales libres (ARN viral) et dans les leucocytes sous forme de virus intégré à l'ADN cellulaire (ADN proviral). Avant d'être utilisé en AMP, le sperme est donc préparé sur un gradient discontinu de densité afin de séparer le ps de la fraction finale de spermatozoïdes [7]. Les spermatozoïdes sélectionnés sont lavés puis congelés. Une évaluation de la charge virale VIH dans le ps est réalisée selon des méthodes de détection standardisées [8] :

- ARN VIH > 100 000 copies/mL de ps : le couple ne pourra pas être pris en charge tant que cette situation persiste et les paillettes sont détruites ;
- ARN VIH < 100 000 copies/mL de ps : une recherche de l'ARN VIH est réalisée dans la fraction finale de spermatozoïdes isolés. Celle-ci doit être indétectable pour que les spermatozoïdes soient utilisables en AMP ;
- ARN VIH indétectable dans le ps : les paillettes peuvent être utilisées en AMP.

Cas particulier du VIH-2 : lors d'une infection par le VIH-2 cette analyse virologique ne peut être réalisée que dans un laboratoire de référence.

Prise en charge des couples sérodiscordants dont la femme est infectée par le VIH

En l'absence d'étiologie d'infertilité, c'est l'auto-insémination qui est indiquée en première intention. En cas d'échecs ou de diagnostic d'une infertilité, l'AMP est proposée, dont le type variera en fonction de la nature de l'infertilité identifiée.

Un suivi obstétrical et une prise en charge de l'enfant à la naissance, adaptés à l'infection à VIH, doivent être organisés avant la mise en œuvre des processus de procréation.

Résultats en assistance médicale à la procréation des couples sérodiscordants pour le VIH

Situation où l'homme est infecté par le VIH

Les taux de grossesses par AMP pour les couples sérodifférents dont l'homme est infecté par le VIH sont satisfaisants. D'après les résultats européens du réseau CREAThe, 3315 cycles ont été réalisés dans ce contexte depuis 2000 (contenant IIU, FIV et transferts d'embryons congelés), 410 naissances ont été obtenues (41,5 %). Aucune contamination de la partenaire n'a été signalée [9].

Ces bons résultats s'expliquent en grande partie par le fait que l'AMP était préconisée pour éviter toute transmission sexuelle du virus et s'adressait en majorité à des couples fertiles. Il se pourrait qu'ils soient moins bons désormais, l'indication d'AMP étant motivée dans un certain nombre de cas par une infertilité du couple.

Situation où la femme est infectée par le VIH

Les données de la littérature montrent des résultats nettement moins favorables en AMP pour les couples sérodifférents dont la femme est infectée par le VIH : seulement 11 % de grossesse par tentative, toutes techniques confondues (tableau 40.1) [10].

Contrairement aux cas précédents, les femmes infectées par le VIH et prises en charge en AMP, présentent souvent une authentique infertilité. Elles ont plus fréquemment, par rapport aux femmes VIH négatif, des pathologies infectieuses pelviennes avec altération tubaire, voire altération de la réserve ovarienne et de la réponse à la stimulation ovarienne. En cas de FIV/ICSI, des politiques de transfert mono-embryonnaire, pour minimiser les risques obstétricaux liés aux grossesses multiples, peuvent majorer ce manque de résultats.

Couples sérodiscordants pour le VHC

Le VHC est un virus à ARN hautement pathogène puisque 80 % des patients infectés par le VHC développeront une hépatite chronique qui évoluera dans 35 % des cas vers une cirrhose et dans 5 % des cas vers un carcinome hépatocellulaire [11]. Sa prévalence est de 1,5 % en Europe et 1,8 % aux États-Unis. Contrairement au VIH, la transmission hétérosexuelle du VHC est faible mais non nulle, 10 % des patients avec une infection par le VHC active rapportant un contact avec un partenaire sexuel infecté par le VHC comme seul risque de transmission (CDC guidelines

Tableau 40.1 Prise en charge des patients VIH positif (avec ou sans co-infection avec d'autres virus) en 2012 [10].

	Homme VIH positif	Femme VIH positif
Tentatives*	385	302
Grossesses évolutives	80	34
Accouchements	64	31
Enfants nés vivants	79	30

* Tentatives : inséminations, ponctions en vue de FIV ou ICSI, ou décongélations.

2010). L'ARN VHC peut être présent dans le ps et les autres fractions cellulaires, avec une prévalence variant de 0 à 30 %, mais il n'a pas été détecté sur les spermatozoïdes [12, 13]. Enfin, le risque de transmission verticale aux nouveau-nés est faible (1 % conception naturelle si ARN VHC négatif chez la mère). Il concerne en particulier les enfants nés de femmes ayant une forte virémie (11 % si ARN VHC positif chez la mère) ou en cas d'infection au cours de la grossesse.

Impact du VHC sur la fertilité de l'homme et de la femme

Certaines publications indiquent une altération des paramètres spermatiques en cas d'infection par le VHC [14], d'autres non [12, 15]. Chez la femme, il ne semble pas que l'infection chronique active par le VHC impacte le développement folliculaire ovarien malgré la détection d'ARN VHC dans le liquide folliculaire de 89 % des femmes VHC positif. Certaines études rapportent cependant des anomalies de la concentration en œstrogènes et du métabolisme de la progestérone chez les femmes contaminées par le VHC, ce qui affecterait la fertilité et la conception.

Recommandations en AMP chez les couples sérodiscordants pour le VHC

Contrairement au VIH, la prise en charge en AMP de patients virémiques pour le VHC est toujours motivée par une infertilité du couple. Elle est indiquée après une évaluation objective de l'état hépatique datant de moins d'un an. La préparation des gamètes s'effectue selon des procédures de lavage renforcé ayant pour objectif d'éliminer les particules virales pouvant être présentes dans le sperme, ou en cas de fécondation ***in vitro*** dans le liquide folliculaire [1]. Les législations française (2010) et américaine (ASRM 2013) préconisent, dans le cas des couples où seul l'homme est VHC positif, de pratiquer un lavage du sperme pour éliminer les risques de transmission, soit par un gradient de densité, soit par gradient de densité additionné d'un *swim-up* [12, 13]. Il n'est pas nécessaire de rechercher la présence de particules virales sur sperme lavé ni de cryopréserver le sperme avant une AMP [12, 15–18].

Contrairement à certains qui recommandent de pratiquer l'ICSI pour réduire le risque de transmission chez les hommes VHC, Savasi *et al.* [15] et la législation française indiquent que l'on peut réaliser des IIU ou des FIV sans qu'il y ait un risque de contamination à la partenaire. En dehors des dispositions spécifiques de lavages, le choix des techniques en AMP est le même que pour les couples indemnes d'infection virale.

Quant à l'impact des traitements contre le VHC sur la fertilité ou leur potentiel embryotoxicité, la ribavirine présente un risque élevé de toxicité sur les gamètes et embryons. Les rapports sexuels doivent être protégés jusqu'à 6 mois après la fin du traitement antiviral. Ce traitement doit donc être systématiquement suspendu 6 mois au minimum avant congélation du sperme en vue d'une AMP ou recueil des ovocytes.

Résultats en AMP des couples sérodiscordants pour le VHC

Les résultats concernant l'AMP chez des couples dont au moins l'un des partenaires est infecté par le VHC sont présentés dans le tableau 40.2. Il n'a pas été observé d'influence de la présence d'ARN VHC dans le ps sur les paramètres des tentatives d'AMP et les issues de grossesse [12]. La présence du VHC influe négativement les résultats [16] ou non [15]. À ce jour, aucune séroconversion du partenaire séronégatif ou de l'enfant à naître n'a été recensée [18].

Couples sérodiscordants pour le VHB

Le VHB est un virus à ADN ayant un tropisme pour les hépatocytes. Après une infection aiguë le plus souvent asymptomatique, environ 5 % des adultes développeront une hépatite chronique conduisant dans moins de 10 % des cas à une cirrhose. La prévalence du VHB varie de moins de 2 % en Europe de l'Ouest à près de 20 % dans des régions de forte endémicité (Afrique subsaharienne, Asie du Sud-Est, Chine). Quatre modes de transmission sont décrits : sexuelle, verticale, parentérale et horizontale (par contact interindividuel). Le VHB est en effet présent sous forme de particules virales libres

Tableau 40.2 Résultats des tentatives d'AMP pour les couples dont l'un des partenaires est VHC positif.

Étude	Homme (H) ou femme (F) VHC positif (n)		AMP (n)	Grossesses (n)	Enfants (n)
Bourlet *et al.*, 2009	H	58 H (VHC ou VHC-VIH)	10 FIV, 78 ICSI, 35 IIU, 12 TEC	24	27
Prisant *et al.*, 2010		28 H	49 FIV/ICSI	7	8
Savasi *et al.*, 2013		35 H	47 IIU, 38 ICSI	14	nd
Prisant *et al.*, 2010	F	22	45 FIV/ICSI	4	2
Hanafi *et al.*, 2011		10	40 FIV/ICSI	2	2
Nesrine *et al.*, 2012		30	30 ICSI		33

FIV : fécondation*in vitro*; ICSI : *intracytoplasmic sperm injection*; IIU : insémination intra-utérine; TEC : transfert d'embryons congelés; nd : non déterminé.

dans le ps (10^6 à 10^7 virions/mL). Le risque de contamination intraconjugale par le VHB, lorsqu'un des deux membres du couple est positif pour l'AgHBs ou que l'ADN du VHB est détectable, est probable en l'absence de vaccination du partenaire. En revanche, une vaccination efficace du partenaire non infecté (titre d'anticorps anti-HBs > 100 UI/mL) assure une protection de ce dernier et l'absence de transmission sexuelle de l'infection. De même, si la charge virale du VHB est positive chez des femmes porteuses de l'AgHBs, le risque de transmission est de 80 à 90 % en l'absence de sérovaccination de l'enfant à la naissance.

Recommandations en AMP chez les couples sérodiscordants pour le VHB

Le recours à l'AMP est toujours motivé par une infertilité sous-jacente. L'AMP est considérée à risque viral lorsque l'AgHBs est positif, quelle que soit la charge virale. Dans le cas où l'anticorps anti-HBc est positif de manière isolée, un dosage sérique de l'ADN du VHB doit être réalisé et le circuit à risque viral emprunté en cas de positivité de ce dernier.

Avant toute prise en charge en AMP d'un couple dont au moins l'un des deux partenaires est infecté par le VHB, des éléments relatifs au suivi hépatique VHB seront nécessaires pour la validation du dossier sur le plan hépatique. Il faut s'assurer que le partenaire est immunisé contre le VHB. En cas de poursuite de la prise en charge du couple en AMP, un suivi hépatique sera demandé.

Ni la validation virologique du sperme après sélection avec congélation de la fraction finale, ni un lavage renforcé du sperme des patients VHB pour diminuer la charge virale ne sont nécessaires (ASRM, 2013).

Quand un traitement est indiqué, les antiviraux utilisés sont les interférons, les analogues nucléosidiques (lamivudine, telbivudine) et les analogues nucléotidiques de la transcriptase inverse (adéfovir et ténofovir). Seul l'entécavir est déconseillé, en raison du manque de recul de son utilisation. Des études à très fortes doses ont retrouvé chez l'animal une augmentation des troubles de l'ossification fœtale. Il sera alors nécessaire soit de suspendre ce traitement 6 mois au minimum avant d'effectuer les actes d'AMP, soit de congeler le sperme ou d'effectuer les actes d'AMP avant de débuter le traitement.

Cas particulier de laco-infection par le virus delta : environ 25 % des porteurs chroniques du VHB sont co-infectés par le VHD, avec un passage à la cirrhose dans 15 à 80 % des cas (ASRM, 2013). En cas de positivité de la sérologie delta, un dosage sérique de l'ARN du VHD indiquera si le virus réplique ou non. En cas de réplication, le risque de contamination des autres patients VHB n'étant pas nul, un circuit particulier devra être emprunté (manipulation des gamètes et des embryons au laboratoire d'AMP dit « à risque viral » espacée dans le temps des autres patients VHB, congélation des gamètes et des embryons dans une bonbonne dédiée au delta). En effet, des marqueurs du VHD (anticorps anti-VHD et ARN VHD) ont été retrouvés dans le liquide folliculaire et le sperme de patients infectés [19].

Résultats en AMP des couples sérodiscordants pour le VHB

Chez l'homme, le VHB aurait tendance à diminuer les taux de fécondation en FIV [20], à baisser les taux d'implantations et de grossesses en ICSI [21]. D'autres études n'ont pas montré d'influence du VHB sur ces paramètres. Une étude a même montré une influence positive sur les taux de grossesses et taux d'implantations en FIV. Chez la femme, le VHB n'aurait pas d'impact sur le taux de grossesses et le taux d'implantations [22].

Références

[1] Arrêté du 3 août 2010 modifiant l'arrêté du 11 avril 2008 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation.

[2] Panozzo L, Battegay M, Friedl A, Vernazza P. High risk behaviour and fertility desires among heterosexual HIV-positive patients with a serodiscordant partner–two challengingissuses. Swiss Med Wkly 2003; 133 : 124–7.

[3] Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, et al. Prevention of HIV-1 Infection with early antiretroviral therapy. N Engl J Med 2011; 365 : 493–505.

[4] Loutfy R, Wu W, Letchuman M, et al. Systematic review of HIV transmission between heterosexual serodicordant couples where the HIV-positive partner is fully suppressed on antiretroviral therapy. PLoS One 2013; 8 : e55747.

[5] Morlat P, et al. Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH, recommandation du groupe d'experts, rapport 2013. La Documentation Française; 2013.

[6] Marina S, Marina F, Alcolea R, et al. Human immunodeficiency virus type-1 serodiscordant couples can bear healthy children after undergoing intrauterine insemination. Fertil Steril 1998; 70 : 35–9.

[7] Leruez-Ville M, de Almeida M, Tachet A, et al. Assisted reproduction in HIV-1-serodifferent couples : the need for viralvalidation of processed semen. AIDS 2002; 16 : 2267–73.

[8] Pasquier C, Sauné K, Raymond S, et al. Determining seminal plasma human immunodeficiency virus type 1 load in the context of efficient highly active antiretroviral therapy. J Clin Microbiol 2009; 47 : 2883–7.

[9] Bujan L, Hollander L, Coudert M, et al. Safety and efficacy of sperm washing in HIV-1-serodiscordant couples where the male is infected : results from the European CREAThE network. AIDS 2007; 21 : 1909–14.

[10] Agence de la biomédecine. Assistance médicale à la procréation 2012. ABM; 2013.

[11] Strader DB, Wright T, Thomas DL. Seeff LB & American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. Hepatology 2004; 39 : 1147–71.

[12] Bourlet T, Lornage J, Maertens A, et al. Prospective evaluation of the threat related to the use of seminal fractions from hepatitis C virus-infected men in assisted reproductive techniques. Hum Reprod 2009; 24 : 530–5.

[13] Savasi V, Parilla B, Ratti M, et al. Hepatitis C virus RNA detection in different semen fractions of HCV/HIV-1 co-infected men by nested PCR. Europ J Obstet Gynecol Reprod Biol 2010; 151 : 52–5.

[14] Garolla A, Pizzol D, Bertoldo A, et al. Sperm viral infection and male infertility : focus on HBV, HCV, HIV, HPV, HSV, HCMV, and AAV. J Reprod Immunol 2013; 100 : 20–9.

[15] Savasi V, Oneta M, Parrilla B, Cetin I. Should HCV discordant couples with a seropositive male partner be treated with assisted reproduction techniques (ART) ? Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2013; 167 : 181–4.

[16] Prisant N, Tubiana R, Lefebvre G, et al. HIV-1 or hepatitis C chronic infection in serodiscordant infertile couples has no impact on infertility treatment outcome. Fertil Steril 2010; 93 : 1020–3.

[17] Hanafi NF, Abo Ali AH, Abo el kheir HF. ICSI outcome in women who have positive PCR result for hepatitis C virus. Hum Reprod 2011; 26 : 143–7.

[18] Nesrine F, Saleh H. Hepatitis C virus (HCV) status in newborns born to HCV positive women performing intracytoplasmicsperm injection. Afr Health Sci 2012; 12 : 58–62.

[19] Mansour W, Lemoine M, NeriPintoa F, et al. Markers of hepatitis delta virus infection can be detected in follicular fluid and semen. J Clin Virol 2014; 61 : 279–81.

[20] Shi L, Liu S, Zhao W, et al. Hepatitis B virus infection reduces fertilization ability during in vitro fertilization and embryo transfer. J Med Virol 2014; 86 : 1099–104.

[21] Zhou XP, Hu XL, Zhu YM, et al. Comparison of semen quality and outcome of assissted reproductive techniques in Chinese men with and without hepatitis B. Asian J Androl 2011; 13 : 465–9.

[22] Chen H, Ge HS, Lv JQ, et al. Chronic hepatitis B virus infection in women is not associated with IVF/ICSI outcomes. Arch Gynecol Obstet 2014; 289 : 213–7.

Assistance médicale à la procréation chez la femme célibataire

Chapitre 41

C. Decanter

La loi de bioéthique régissant l'assistance médicale à la procréation (AMP) en France précise la nécessité d'être en couple, composé d'un homme et d'une femme, et de faire valoir un problème d'infertilité attesté médicalement pour pouvoir bénéficier de la mise en œuvre des procédures. Cependant, ce contexte légal n'exclut pas le désir de maternité actuel ou futur des patientes célibataires. Deux situations peuvent être distinguées dans ce contexte :

- la patiente célibataire souhaitant une grossesse hors projet conjugal nécessitant le recours aux inséminations avec sperme de donneur ;
- la patiente célibataire souhaitant préserver sa fertilité dans l'attente d'une situation conjugale future permettant la structuration d'un projet parental.

Si cette dernière situation peut se concevoir dans le cadre législatif français, la première nécessitera de solliciter les équipes européennes voisines autorisant ces pratiques.

Le désir d'enfant hors projet conjugal

Peu d'études concernent ce projet spécifique car, en réalité, même dans les pays autorisés, les demandes sont peu nombreuses, parfois même difficilement chiffrables. Bien souvent en effet, ces études confondent les patientes célibataires sans conjoint avec les patientes homosexuelles, ce qui introduit un biais évident dans l'interprétation des résultats. L'accès à l'AMP des femmes célibataires est source de nombreuses controverses. Néanmoins, les sociétés savantes américaines et européennes ont chacune rédigé des rapports officiels incitant à la bienveillance dans l'examen des demandes [1, 2].

Contexte légal en Europe

L'esprit de la loi française est de se « caler » sur les structures naturelles de la parentalité : le couple doit donc être composé d'un homme et d'une femme, vivants, en âge de procréer, avec une infertilité avérée médicalement. La loi française reste ainsi attachée au cadre familial traditionnel, revendique une AMP aidante à la procréation naturelle et non pas source d'alternatives « contre-nature » à la procréation. La prise en charge totale des frais par l'assurance maladie n'est sans doute pas étrangère à cette immobilité juridique et culturelle.

D'autres pays européens, à l'instar des États-Unis, ont choisi d'assumer l'artificialité des techniques et d'accepter que l'AMP soit utilisée y compris à des fins de parentalités naturellement impossibles [1, 2]. C'est le cas de la Belgique, l'Espagne, la Grèce, le Royaume-Uni, les Pays-Bas, le Luxembourg, la Lettonie et l'Estonie. Dans la plupart de ces pays, les demandeurs participent pour tout ou partie aux frais engagés. Pour autant, l'accès à ces modes de procréation « atypiques » ne constitue pas un droit : en 2011, la Cour européenne des droits de l'homme (CEDH) a rejeté la requête de deux couples autrichiens demandeurs de don de sperme, l'Autriche étant avec l'Allemagne l'un des pays d'Europe les plus restrictifs pour l'AMP, estimant qu'un État ne viole pas l'article 8 de la CEDH relative aux droits et au respect de la vie privée,

en ne légalisant pas la procréation artificielle avec don de gamètes [3]. À l'inverse, en 2008, la cour suprême de Californie condamne le refus par certains médecins d'accéder à une demande de don de sperme chez des patientes homosexuelles pour des raisons religieuses accusant ceux-ci de discrimination contraire à la loi de l'État [1, 4].

Le débat

Deux types d'objections sont avancés de manière récurrente : la première est d'ordre déontologique reposant sur l'absence d'indication médicale et le contexte « contre-nature » de ce type de parentalité; la seconde est plutôt d'ordre conséquentiel avec un souci du bien-être psychologique et affectif de ces enfants conçus et éduqués en l'absence de figure paternelle et de toute forme de conjugalité. Il existe une littérature abondante concernant les troubles psychologiques plus fréquents des enfants élevés par une mère célibataire. Néanmoins, l'ensemble de ces études concerne des cas de divorces et de veuvages, les mères sont bien souvent isolées, parfois dépressives et souvent avec des problèmes socio-économiques. Golombok et Badger ont assuré le suivi prospectif d'enfants âgés de 6 à 18 ans de 42 femmes ayant conçu sans conjoint et les ont comparés à ceux de couples homosexuels ou traditionnels [5]. Aucune différence significative n'est mise en évidence, suggérant que la sérénité du foyer au moment de la conception et durant l'éducation reste l'élément fondamental de l'équilibre de l'enfant. Par ailleurs, les résultats rassurants des nombreuses études de suivi d'enfants de familles homosexuelles sont souvent avancés pour défendre l'accès aux inséminations des femmes célibataires. Il faut également noter que dans de nombreux pays, l'accès aux inséminations dans ce contexte impose des tests psychologiques préalables et… des moyens économiques conséquents !

Préservation de la fertilité chez la femme célibataire : du cancer à l'assistance médicale à la procréation du futur

Les techniques de préservation de la fertilité féminine se sont considérablement développées ces dernières années avec, notamment, l'amélioration de la congélation ovocytaire par vitrification. En France, l'indication principale du recours à ces techniques est représentée par l'oncologie. Pourtant, la loi française permet d'aller bien plus loin dans les champs de réflexion, ouvrant ainsi la porte à une nouvelle AMP.

Le contexte légal

Avant de juger le caractère trop restrictif d'une loi, il convient d'étudier l'ensemble des possibilités offertes par celle-ci. La loi de bioéthique française (2004 et 2011) prévoit qu'« en vue de la réalisation ultérieure d'une AMP, toute personne peut bénéficier du recueil et de la conservation de ses gamètes lorsqu'une prise en charge médicale est susceptible d'altérer sa fertilité ou lorsque sa fertilité risque d'être prématurément altérée ». Par essence, toute femme voit sa fertilité « prématurément altérée », à tout le moins par rapport à celle de l'homme. Ainsi, le contexte légal français, souvent décrié concernant l'autoconservation des ovocytes, s'avère bien plus permissif qu'annoncé. Par conséquent, la proposition de congélation des ovocytes peut se concevoir, au même titre d'ailleurs que l'autoconservation de sperme, au-delà des seuls traitements gonadotoxiques, dans les situations de mise en différé du projet de grossesse pour raison médicale et de risque de voir réduite la fenêtre physiologique de conception : pathologies ovariennes bénignes, altérations de la réserve folliculaire… Aux États-Unis, les femmes sont libres de congeler leurs ovocytes pour des raisons non médicales et cette indication représente 65 % des demandes de congélation [6]. Dans la majorité des pays européens, les droits sont identiques. Dans la plupart des cas, la procédure est à la charge du patient.

Le débat

En France, le débat est troublé principalement du fait d'un problème sémantique : l'idée d'une préservation de type sociétale, dite « de convenance » prévaut sur l'ensemble des arguments médicaux pouvant faire s'exercer la préservation de la fertilité féminine dans l'esprit de notre loi de bioéthique [7, 8]. La frontière entre le sociétal et le médical est en effet extrêmement ténue et relève de l'appréciation de chacun : une femme

célibataire peut choisir de faire réaliser son bilan de réserve ovarienne et, si celui-ci montre une réserve jugée inférieure à celle d'une population témoin du même âge, se voir autorisée à préserver sa fertilité pour raison médicale. Par ailleurs, nombreux sont les arguments médicaux allégués par les sociétés savantes américaines et européennes pour en quelque sorte faire entrer l'autoconservation d'ovocytes dans le champ de la médecine préventive [**9–11**]. D'autres vont même jusqu'à comparer le coût médico-économique d'une FIV après 38 ans chez une femme avec diminution de la réserve ovarienne *versus* une FIV utilisant les ovocytes de la même patiente mais recueillis 8 ans plus tôt [12] ! La Société américaine de médecine de la reproduction incite à la prudence concernant l'autoconservation d'ovocytes en vue de fertilité future de peur d'être pourvoyeurs de faux espoirs ; en effet, dans les pays ou cette pratique est autorisée, l'immense majorité des femmes y ayant recours ont plus de 38 ans, faisant augurer de chances de conception très faibles [10]. Les recommandations les plus récentes prônent une congélation idéalement avant 35 ans voire 32 ans [10, 11]. En effet, de récentes études, réalisées en Espagne et en Italie, estiment que les chances de grossesse ne seront « satisfaisantes » (40 à 50 % si l'on a obtenu des embryons après la décongélation des ovocytes) qu'à la condition de disposer d'au moins huit ovocytes matures et d'avoir moins de 38 ans [13]. Les recommandations européennes attirent l'attention sur le caractère préventif d'une future infertilité. L'autoconservation d'ovocytes chez les patientes jeunes à risque d'infertilité future éviterait le recours au don d'ovocytes dont les problèmes éthiques sont au moins aussi importants que ceux davantage décriés de la congélation ovocytaire chez la femme célibataire [11], mais aussi les pathologies chromosomiques liées à l'âge [14]. Il est intéressant de constater que le dernier avis de l'ESHRE, très positif et convaincant, était pourtant négatif et dissuasif en 2004. Le Collège national des gynécologues-obstétriciens français (CNGOF) s'est prononcé en faveur de la congélation ovocytaire pour raisons non médicales en prenant soin de préciser qu'il est impératif de réaliser cette autoconservation avant 35 ans et d'envisager la ré-utilisation des gamètes conservés avant 43 ans pour éviter les risques inhérents aux grossesses tardives. La fédération nationale des centres d'étude et de conservation des œufs et du sperme humains (CECOS) juge le débat prématuré et la demande non pertinente à ce jour. Le Comité consultatif national d'éthique (CCNE) n'a pas encore rendu son avis officiel mais poursuit la réflexion. Sans aucun doute et encore une fois, le problème de la prise en charge par l'assurance maladie posera problème dans l'avancée des débats. Et pourtant, les choses pourraient être simples : les patientes ayant une preuve médicale de risque d'infertilité future pourraient se voir remboursées des procédures. Quant aux patientes avec réserve ovarienne normale qui souhaiteraient quand même accéder à l'autoconservation d'ovocytes, elles se verraient payer l'intégralité du processus. Reste à définir qui prendra en charge la ré-utilisation des gamètes décongelés en FIV…

Conclusion

La demande d'AMP chez la femme célibataire dans les deux configurations précitées se doit d'être accueillie et traitée par le corps médical bien sûr mais aussi par la société avec bienveillance. L'évolution des recommandations européennes et américaines atteste de la légitimité du débat et de la mouvance sociétale qui nourrit celui-ci. L'accès aux techniques de préservation de la fertilité chez la femme célibataire se doit d'être élargi pour, à terme, diminuer la demande de dons d'ovocytes et, par conséquent, le tourisme procréatif mais aussi la demande d'enfant sans conjoint.

Références

[1] Ethics Committee of American Society for reproductive medicine. Access to fertility treatment by gays, lesbians, and unmarried persons : a committee opinion. Fertil Steril 2013 ; 100 : 1524–7.

[2] De Wert G, Dondorp W, Shenfield F, et al. ESHRE task force on Ethics and Laws 23 : medically assisted reproduction in singles, lesbian and gay couples, and transsexual people. Human reprod 2014 ; 29 : 1859–65.

[3] CEDH, grande chambre, 03/11/2011. SH. Autriche, requête n° 57813/00.

[4] North Coast Women's care Medical Group. Benitez v, 44 cal th 1145 (2008).

[5] Golombok S, Badger S. Children raised in mother-headed families from infancy : a follow-up of children of lesbian and single heterosexual mothers, at early adulthood. Hum Reprod 2010 ; 25 : 150–7.
[6] Rudick B, Opper N, Paulson R, et al. The status of oocyte cryopreservation in the United States. Fertil Steril 2010 ; 94 : 2642–6.
[7] Belaisch-Allart J, Brzakowski M, Chouraqui A, et al. Social egg freezing : which problems ? Gynecol Obstet Fertil 2013 ; 41 : 518–20.
[8] Belaisch-Allart J. "Societal" assisted reproductive technology : why so scared ? Gynecol Obstet Fertil 2014 ; 42 : 557–8.
[9] Practice Committees of American Society of Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. Mature oocyte cryopreservation : a guideline. Fertil Steril 2013 ; 99 : 37–43.
[10] American College of Obstetricians and Gynacologists Committee on Gynaecologic Practice, Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Female age-related fertility decline. Obstet Gynecol 2014 ; 123 : 719–21. Committee opinion nº 589.
[11] ESHRE Task Force on Ethics and Law, Dondorp W, de Wert G, et al. Oocyte cryopreservation for age-related fertility loss. Human Reproduction 2012 ; 27 : 1231–7.
[12] Hirshfeld-Cytron J, Grobman WA, Milad MP. Fertility preservation for social indications : a cost-based decision analysis. Fertil Steril 2012 ; 97 : 665–70.
[13] Rienzi L, Cobo A, Paffoni A, et al. Consistent and predictable delivery rates after oocyte vitrification : an observational longitudinal cohort multicentric study. Hum Reprod 2012 ; 27 : 1606–12.
[14] Shkedi-Rafid S, Hashiloni-Dolev Y. Egg freezing for age-related fertility decline : preventive medicine or a further medicalization of reproduction ? Analyzing the new Israeli policy. Fertil Steril 2011 ; 96 : 291–4.

Autoconservation ovocytaire

Chapitre 42

A. Amar Hoffet, V. Lubin, B. Rossin

L'autoconservation ovocytaire s'adresse à des femmes en bonne santé souhaitant conserver leurs ovocytes à un âge compatible avec une meilleure fertilité.

L'article L. 2141-11 de la loi de bioéthique mentionne que « toute personne dont la prise en charge médicale est susceptible d'altérer la fertilité ou dont la fertilité risque d'être prématurément altérée, peut bénéficier du recueil et de la conservation de gamètes ou de tissus germinaux, en vue de la réalisation ultérieure, à son bénéfice, d'une AMP, ou en vue de la préservation et de la restauration de la fertilité ».

Il n'y a donc pas de prise en charge de la préservation de gamètes pour causes sociétales en France. Ceci n'est pas le cas dans tous les pays mais dépend de la législation interne de chaque état.

Technique utilisée : la vitrification ovocytaire

C'est la technique de première intention en préservation de la fertilité reconnue par les sociétés savantes [1–4].

La conservation de tissu ovarien avec autotransplantation de tissu congelé-réchauffé a donné très peu de naissances dans le monde [5–8].

Pour éviter les risques de l'hyperstimulation ovarienne, la maturation *in vitro* (MIV) avec le recueil de follicules secondaires est encore une technique considérée comme de recherche en préservation de la fertilité mais qui a montré son efficacité dans la prise en charge des patientes ayant des ovaires polykystiques [9–11].

La vitrification ovocytaire est une vraie révolution médicale depuis la première naissance en 1986 [12]. Vers les années 2000, différentes équipes ont permis de vraiment exploiter cette technique et ont montré des résultats très prometteurs [11, 13–15].

Les travaux de Rienzi [16] ont montré la possibilité de congeler des ovocytes avec un excellent taux de survie au réchauffement, et ont permis de faire accélérer l'utilisation de cette technique. Les ovocytes décongelés avaient les mêmes taux de fécondation [4] et de grossesses que les ovocytes frais [16].

Dans de nombreux centres, l'autoconservation ovocytaire est proposée dans le panel de leur activité, pour les femmes souhaitant faire une préservation de la fertilité pour raisons non médicales.

Cette technique s'est rapidement développée devant les études rassurantes qui montrent qu'elle ne comporte pas de risques supérieurs à une fécondation *in vitro* (FIV) conventionnelle. Une étude sur près de 1000 naissances après congélation ovocytaire n'a pas mis en évidence une augmentation d'anomalies congénitales chez les enfants nés [14].

En 2010, 50 % des centres américains proposaient la cryoconservation ovocytaire [17]. Dans leurs indications de préservation de fertilité, 64 % des conservations étaient pour l'autoconservation ovocytaire de convenance.

En 2011, le Comité d'éthique israélien recommandait la préservation de la fertilité pour prévenir de la baisse de la fertilité liée à l'âge par vitrification ovocytaire [18].

En 2011, au Canada, 45 % des cliniques qui présentaient un programme de vitrification ovocytaire proposaient l'autoconservation ovocytaire [19].

En 2012, l'ESHRE *(European Society of Human Reproduction and Embryology)* reconnaît l'autoconservation ovocytaire comme une technique efficace et fiable [20].

Quelles sont les raisons évoquées pour l'autoconservation ovocytaire ?

L'autonomie reproductive : la liberté de décider quand et comment avoir un enfant semble être une valeur importante de notre société moderne. Ce droit d'établir une famille est explicitement protégé par la Convention européenne des droits de l'homme. La fenêtre d'opportunité d'exercer ce droit est plus courte chez la femme que chez l'homme. La cryoconservation ovocytaire pourrait réduire cette inégalité comme en témoignent les arguments féministes en faveur de cette technique [21]. Cette inégalité biologique est encore plus renforcée lorsque la femme désire mener une carrière professionnelle comme le soulignent la commission d'éthique et les lois de l'ESHRE [20].

La carrière professionnelle pour la femme est une problématique moderne, d'autant plus qu'elle est diplômée. En effet, l'ascension sociale professionnelle est concomitante à l'âge le plus fertile de la femme entre 25 et 35 ans. L'exposition à la grossesse avec le congé maternité qui en découle durant cette période peut engendrer des pertes de promotions professionnelles ou un licenciement ou reclassement professionnel [22].

En effet, il existe une inégalité biologique entre la femme et l'homme concernant la perte de la fertilité avec l'âge. De plus, il existe la possibilité pour l'homme de pouvoir congeler son sperme depuis longtemps suivant différents paramètres (métiers effectués, sport, avant vasectomie…) [23].

Dans le plébiscite des femmes concernant cette technique, elles soulignent la liberté d'avoir un enfant quand elles le désirent et non parce que des règles de prise en charge médicale le leur imposent.

L'AMP ne peut compenser la chute de la fertilité avec l'âge. Par contre, conserver ses ovocytes et les réutiliser plus tard donnent des taux de succès de grossesses proches de ceux de l'âge de conservation.

Questions que soulève l'autoconservation ovocytaire

La médecine ne doit-elle régler que des problèmes médicaux ? Qu'en est-il de la chirurgie esthétique, de la stérilisation, de l'avortement ? Quand est-ce que l'AMP est nécessaire ? Une cause d'infertilité peut être identifiée comme l'endometriose et répondre à un problème médical mais qu'en est-il alors de l'infertilite inexpliquéee, est-ce une cause médicale clairement définie [24] ?

La définition de l'autoconservation pour raisons sociales pose aussi plusieurs problématiques.

Doit-on répondre à un problème sociétal par une solution médicale ? [25] Quand une patiente demande une interruption de grossesse pour raisons sociales lui refuse-t-on ? Une femme ayant recours au don d'ovocytes à 40 ans, n'est-ce pas sociétal ? Pourquoi refuser une autoconservation à une femme ayant le désir d'être mère mais qui sent que ce projet peut mettre en péril ses projets professionnels et son équilibre psychologique devant la pression biologique de faire des enfants rapidement ?

L'autoconservation ovocytaire impose une prise en charge médicale, avec un traitement hormonal, ainsi qu'une prise en charge chirurgicale au bloc opératoire. Elle n'est donc pas dénuée de risques, certes faibles mais présents (< 1 %) [26].

De plus, pour obtenir une conservation avec un nombre conséquent d'ovocytes, il peut être nécessaire de pratiquer plusieurs cycles de stimulation ovocytaire avec une augmentation du risque de complications.

Les chances d'obtenir une grossesse sont dépendantes de la qualité ovocytaire qui dépend de l'âge des patientes. Plus l'autoconservation aura lieu à un âge jeune, plus elle sera efficace [27].

L'autoconservation ovocytaire ne peut être pratiquée sans consentement éclairé des patientes avant leur prise en charge.

Si elle est acceptée par un pays, une charte éthique est nécessaire pour éviter une exploitation commerciale d'un problème sociétal. Elle doit être proposée dans les centres pratiquant déjà cette technique pour des raisons médicales et être soumise aux mêmes réunions de concertation pour l'acceptation des dossiers.

L'autoconservation ovocytaire ne doit pas encourager les femmes ou couples à différer leur projet de grossesse avec les risques materno-fœtaux et les conséquences psycho-sociales pour l'enfant à naître qui en découlent. En effet, les femmes de plus de 40 ans ont un taux légèrement plus élevé d'hypertension artérielle, de diabète et de mortalité maternelle et les enfants à naître auront un peu plus de risques de prématurité et de complications.

L'âge de la réutilisation des gamètes est une question importante. L'âge ovarien est différent de l'âge utérin. Plusieurs pays pratiquant l'autoconservation ovocytaire ont calqué l'âge de réutilisation des gamètes aux patientes ayant droit à un don d'ovocyte :

- la Commission royal canadienne [28] accepte le don ou la réutilisation des gamètes jusqu'à la ménopause ;
- aux Pays-Bas [29] ou aux États-Unis [30], l'utilisation des gamètes ou le recours au don doit se faire avant 50 ans. En effet, dans ces pays les femmes peuvent avoir recours au don d'ovocytes jusqu'à 50 ans tout en étant éclairées des risques des grossesses entre 40 et 50 ans, alors pourquoi refuser l'utilisation de leurs propres gamètes congelés ?

Plusieurs rapports [31, 32] montrent que les femmes sont souvent ignorantes du déclin de leur fertilité avec l'âge.

Brooke Hodes-Wertz en 2013 [33] a montré en interrogeant les femmes venant dans son centre pour de l'autoconservation ovocytaire que 75 % des femmes pensaient connaître les effets délétères de l'âge sur la fertilité et dans 38 % grâce à leur médecin ; 88 % des femmes interrogées voulaient l'autoconservation car elles étaient célibataires ; 83 % des femmes disaient que les médias donnent l'impression qu'être mère à un âge avancé est une option « facile ».

L'*American Society for Reproductive Medecine* (ASRM) a établi des *guidelines* pour l'information Internet des cliniques affiliées qui pratiquent l'autoconservation ovocytaire [9]. D'après le travail de Sarit Avraham en 2014 [34], seulement 4,8 % des cliniques donnaient des informations exhaustives sur l'autoconservation, les taux de grossesses, la technique, son coût et son efficacité ; 12,5 % des cliniques privées et 15,8 % des universités montraient leur résultat en termes de chances de conception après autoconservation.

Dans une étude interrogeant les étudiantes de Californie du nord [35], 53 % des étudiantes étaient prêtes à faire de l'autoconservation si on les informait d'une baisse de leur réserve ovarienne. Seulement 29 % arrêteraient leur activité professionnelle ou étudiante pour concevoir si elles présentaient un problème d'infertilité.

Il s'agit donc d'informer les jeunes femmes du déclin de la fertilité, de communiquer sur les taux de grossesses en fonction de l'âge. Il ne s'agit pas d'encourager le report de la grossesse *ad vitam eternam*.

Néanmoins, l'autoconservation ovocytaire peut être un argument commercial dans les entreprises. Il faut donc être vigilants à cette pratique.

La Silicon Valley, avec des entreprises comme Apple ou Facebook, proposerait à leurs employées de prendre en charge une partie de leurs frais de conservation ovocytaire pour « augmenter les performances de l'entreprise », car les employés les plus efficaces dans une entreprise auraient un âge compris entre 25 et 35 ans [36].

Coût de l'autoconservation ovocytaire

Suivant l'analyse de la littérature, les coûts sont variables. Aux États-Unis [37], une étude a montré que bien qu'il soit plus efficace de conserver ses ovocytes à 25 ans et de les utiliser à 40 ans, l'autoconservation ne serait pas rentable.

En Europe, une étude hollandaise [38] montre par contre que l'autoconservation à 35 ans est rentable. Il faut pondérer la rentabilité en fonction du prix de l'assistance médicale à la procréation dans ces différents pays.

En France, cette technique n'est pas encore autorisée pour des raisons non médicales et ne s'inscrit donc pas dans une prise en charge par l'assurance maladie. La prise en charge par la Sécurité sociale de l'infertilité pose le problème de la considération financière de cette nouvelle démarche de reproduction. Or pourquoi ne pourrait-on pas autoriser cette démarche mais qui serait payante pour les femmes, ce qui éviterait le départ de ces femmes vers les pays frontaliers ?

Par ailleurs, la réutilisation des ovocytes avec l'utilisation de l'ICSI *(intracytoplasmic sperm injection)* pourrait être remboursée par le système collectif. Qu'en est-il de ces femmes qui attendent pour concevoir depuis plus d'un an et qui ont des gamètes congelés ? Doit-on les aider financièrement ? Ne relève-t-elle pas d'une indication médicale ?

Conclusion

Quel que soit notre positionnement par rapport à l'autoconservation ovocytaire, il me semble qu'il est de notre devoir et de notre responsabilité de praticien d'informer les patientes sur leur fertilité, sur les techniques existantes et du déclin de la fertilité liée à l'âge. En effet, peu de femmes en souffrance dans leurs décisions de carrière, de famille sont au courant de l'autoconservation ovocytaire. La consultation annuelle chez le gynécologue doit être une opportunité pour discuter des futurs projets de grossesse, de la fertilité.

Mais il est évident qu'il faut les informer des risques liés à cette technique, de ses résultats des taux de grossesses et de ne pas retarder le projet de maternité à un âge où d'autres facteurs de morbi-mortalité se surajoutent.

En France, la réflexion se poursuit à travers le Comité national d'éthique et nos différentes sociétés savantes. Il paraît difficile de ne pas aller vers une acceptation de cette technique avec un encadrement éthique et réglementaire adapté.

Références

[1] ACOG. Obstet Gynecol 2014 ; 123 : 221–2 Committee opinion no 584 : oocyte cryopreservation.

[2] Ethics Committee of American Society for Reproductive Medecine. Fertility preservation and reproduction in patients facing gonadotoxic therapies : a committee opinion. Fertil Steril 2013 ; 100 : 1224–31.

[3] Practice Committee of American Society for Reproductive Medecine. Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy : a committee opinion. Fertil Steril 2013 ; 100 : 1214–23.

[4] Practice Committees of American Society for Reproductive Medecine, Society for Assisted Reproductive Technology. Mature oocyte cryopreservation : a guideline. Fertil Steril 2013 ; 99 : 37–43.

[5] Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. Lancet 2004 ; 364 : 1405–10.

[6] Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T, et al. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. N Engl J Med 2005 ; 353 : 318–21.

[7] Demeestere I, Simon P, Emiliani S, et al. Fertility preservation : successful transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a young patient previously treated for Hodgkin's disease. Oncologist 2007 ; 12 : 1437–42.

[8] Andersen AN, Pinborg A, Loft A. Neonatal outcome in singletons conceived after ART. Lancet 2008 ; 372 : 694–5.

[9] Robertson JA. Cancer and fertility : ethical and legal challenges. J Nat Cancer Inst Monogr 2005 ; 34 : 104–6.

[10] Varghese AC, du Plessis SS, Falcone T, Agarwal A. Cryopreservation/transplantation of ovarian tissue and in vitro maturation of follicles and oocytes : challenges for fertility preservation. Reprod Biol Endocrinol 2008 ; 6 : 47.

[11] Chian RC, Gilbert L, Huang JY, et al. Live birth after vitrification of in vitro matured human oocytes. Fertil Steril 2009 ; 91 : 372–6.

[12] Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. Lancet 1986 ; 1 : 884–6.

[13] Cobo A, Kuwayama M, Perez S, et al. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. Fertil Steril 2008 ; 89 : 1657–64.

[14] Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. Reprod Biomed Online 2009 ; 18 : 769–76.

[15] Kuleshova LL, Tan FC, Magalhaes R, et al. Effective cryopreservation of neural stem or progenitor cells without serum or proteins by vitrification. Cell Transplant 2009 ; 18 : 135–44.

[16] Rienzi L, Cobo A, Paffoni A, et al. Consistent and predictable delivery rates after oocyte vitrification : an observational longitudinal cohort multicentric study. Hum Reprod 2012 ; 27 : 1606–12.

[17] Rudick B, Opper N, Paulson R, et al. The status of oocyte cryopreservation in the United States. Fertil Steril 2010 ; 94 : 2642–6.

[18] Shkedi-Rafid S, Hashiloni-Dolev Y. Egg freezing for age-related fertility decline : preventive medicine or a further medicalization of reproduction ? Analyzing the new Israeli policy. Fertil Steril 2011 ; 96 : 291–4.

[19] Liu KE, Greenblatt EM. Oocyte cryopreservation in Canada : a survey of Canadian ART clinics. J Obstet Gynaecol Can 2012 ; 34 : 250–6.

[20] ESHRE Task Force on Ethics and Law, Dondorp W, de Wert G, Pennings G, et al. Oocyte cryopreservation for age-related fertility loss. Human Reprod 2012 ; 27 : 1231–7.

[21] Homburg R, van der Veen F, Silber SJ. Oocyte vitrification--women's emancipation set in stone. Fertil Steril 2009 ; 91 : 1319–20.

[22] Belaisch-Allart J, Brzakowski M, Chouraqui A, et al. Social egg freezing : which problems ? Gynecol Obstet Fertil 2013 ; 41 : 518–20.

[23] Anger JT, Gilbert BR, Goldstein M. Cryopreservation of sperm : indications, methods and results. J Urol 2003 ; 170 : 1079–84.

[24] Dondorp WJ, De Wert GM. Fertility preservation for healthy women : ethical aspects. Human Reprod 2009 ; 24 : 1779–85.

[25] Verweij M. Medicalization as a moral problem for preventative medicine. Bioethics 1999 ; 13 : 89–113.

[26] Bodri D, Guillen JJ, Polo A, et al. Complications related to ovarian stimulation and oocyte retrieval in 4052 oocyte donor cycles. Reprod Biomed Online 2008 ; 17 : 237–43.

[27] Khoshnood B, Bouvier-Colle MH, Leridon H, Blondel B. Impact of advanced maternal age on fecundity and women's and children's health. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2008 ; 37 : 733–47.

[28] Knoppers BM, Le Bris S. Reproductive genetics : Canadian and European perspectives. Fetal Diagn Ther 1993 ; 8 : 189–201.

[29] Kortman M, de Wert GM, Fauser BC, Macklon NS. Pregnancy at a later age with the help of oocyte donation. Ned Tijdschr Geneeskd 2006 ; 150 : 2591–5.

[30] Sauer MV, Kavic SM. Oocyte and embryo donation 2006 : reviewing two decades of innovation and controversy. Reprod Biomed Online 2006 ; 12 : 153–62.

[31] Bretherick KL, Fairbrother N, Avila L, et al. Fertility and aging : do reproductive-aged Canadian women know what they need to know ? Fertil Steril 2010 ; 93 : 2162–8.

[32] Peterson BD, Pirritano M, Tucker L, Lampic C. Fertility awareness and parenting attitudes among American male and female undergraduate university students. Human Reprod 2012 ; 27 : 1375–82.

[33] Hodes-Wertz B, Druckenmiller S, Smith M, Noyes N. What do reproductive-age women who undergo oocyte cryopreservation think about the process as a means to preserve fertility ? Fertil Steril 2013 ; 100 : 1343–9.

[34] Avraham S, Machtinger R, Cahan T, et al. What is the quality of information on social oocyte cryopreservation provided by websites of Society for Assisted Reproductive Technology member fertility clinics ? Fertil Steril 2014 ; 101 : 222–6.

[35] Bavan B, Porzig E, Baker VL. An assessment of female university students' attitudes toward screening technologies for ovarian reserve. Fertil Steril 2011 ; 96 : 1195–9.

[36] Friedman D. Perk up : Facebook and Apple now pay for women to freeze eggs. NBC NEWS ; oct 14, 2014.

[37] Hirshfeld-Cytron J, Grobman WA, Milad MP. Fertility preservation for social indications : a cost-based decision analysis. Fertil Steril 2012 ; 97 : 665–70.

[38] Van Loendersloot LL, Moolenaar LM, Mol BW, et al. Expanding reproductive lifespan : a cost-effectiveness study on oocyte freezing. Human Reprod 2011 ; 26 : 3054–60.

Les mères porteuses : une position d'avocat de l'enfant ?

Chapitre 43

C. Dolto

À première vue l'idée de substituer l'utérus d'une femme à celui d'une autre pour qu'un enfant puisse venir au monde paraît, sur le papier, une idée astucieuse. Et simple. Les vétérinaires y ont pensé depuis longtemps ; pour ne pas mettre en danger les femelles de grande race, ils font porter leurs produits par des femelles plus rustiques de moindre valeur. Mais quand il s'agit d'enfants humains la situation est beaucoup plus complexe, car nous ne sommes pas des mammifères comme les autres.

Nous savons de nos jours que la vie prénatale, la naissance et l'accouchement (événements conjoints mais différents) comme les premiers mois de vie post-natale laissent des traces d'une très grande importance dans la vie d'un sujet humain. Ces traces vont exercer une influence plus ou moins souterraine tout au long de sa vie. L'importance de ces traces a plusieurs origines.

L'épigénétique nous apprend que le dialogue entre le génome de l'enfant et le monde qui l'entoure est constant et intense[1]. Certaines modifications sont provisoires d'autres définitives, leurs causes sont multiples mais les effets certains au point qu'il est clair maintenant que le génome reçu lors de la conception est différent de celui de l'enfant à sa naissance qui est le résultat d'un certain nombre de changements dus à son vécu, au sens le plus large du terme, prénatal. (Certains éleveurs de chevaux ont découvert que le pelage du poulain pouvait être identique à celui de sa mère porteuse.) Les relations entre le fœtus et son environnement représenté en tout premier lieu par sa mère, médiatrice du monde extérieur, sont donc d'une très grande importance.

Mais l'essentiel est d'ordre psycho-affectif. Le temps n'est plus où l'on considérait le nouveau-né comme un tube digestif vaguement sophistiqué et le fœtus comme un être insensible à ce qui vit sa mère, doté d'un génome qui, comme un fait de destin, aurait défini pour toujours les limites dans lesquelles sa personnalité allait pouvoir se développer.

Chercheurs et cliniciens du monde entier ont prouvé combien cette vision erronée était pathogène. Ils ont validé les certitudes que certains psychanalystes avaient avancées dès 1939 [1, 2] disant, après Erasme, que l'éducation commence bien avant la naissance. En effet, l'intelligence est là, dès la naissance, avant même d'être étayée par l'expérience, elle est même en éveil dès la vie prénatale. La vie affective et l'éveil aux sensations du petit humain sont intenses dès son plus jeune âge, elles commencent dans le giron maternel. Les perceptions et les contacts affectifs sollicitent le cerveau et infléchissent le frayage des circuits neuronaux. Dans le néocortex, structure propre à l'espèce humaine, il y a des territoires corticaux libres destinés à recevoir ce matériel neuronal créé à l'occasion des expériences vécues par le fœtus et le nouveau-né. L'enfant s'inscrit dans un lignage qui influence, au-delà de la génétique, sa personne et son développement. On sait maintenant qu'il n'y a pas une, mais des mémoires, dont les souvenirs conscients ne représentent qu'une toute petite partie. Ces mémoires multiples, inscrites dans la chair, influencent notre manière d'orienter nos vies. Tout être humain est en partie modelé par son histoire et celle de ses parents, la découverte des

[1] L'épigénétique est un concept né au XIXe siècle, redéfinie par Conrad Waddington en 1942. Dans son sens actuel, l'épigénétique désigne l'étude des influences de l'environnement cellulaire et/ou physiologique sur l'expression des gènes.

influences transgénérationnelles est essentielle [3–5]. Les émotions fœtales, bonnes ou mauvaises, et celles de l'entourage pendant sa gestation laissent des traces profondes qui se manifesteront en termes de santé physique et psycho-affective tout au long de la vie du Sujet[2].

L'accompagnement haptonomique[3] [6, 7] de la grossesse et de la petite enfance nous apprend beaucoup de choses dans ce domaine. La plasticité cérébrale est à l'œuvre dès la vie prénatale. L'enfant *in utero* est curieux du monde qui les entoure, lui et sa mère. Bien avant d'avoir une audition active, il perçoit les vibrations que les sons provoquent, à travers le liquide amniotique, sur sa peau et dans sa future colonne vertébrale. Les hormones ont un goût et une odeur qui imprègnent le liquide amniotique, une mère stressée ou une mère sereine n'ont pas le même goût. Très vite, le fœtus discrimine les voix et s'approche de celles qui l'intéressent. Ces traces mnésiques vocales perdurent étonnamment longtemps, de multiples histoires cliniques en attestent, elles fondent l'apprentissage de la langue maternelle. L'enfant *in utero* décode les moindres modifications de tonus dans les parois de l'utérus et se montre très sensible à la manière dont sa mère est affectivement présente pour lui ou non. Dès qu'une main se pose sur le ventre maternel, il discrimine la qualité du contact et sa motricité change quand il se sent accueilli et « écouté ». Dans son univers, l'affectif[4] se traduit par des perceptions qui donnent des sensations, des réactions, expériences fondatrices pour sa future personnalité. La clinique montre que ce qui reste de ce passé, demeure, au fil du temps, fascinant et attractif. Ainsi, à 30 ans, on reste attiré par les aliments appréciés par sa mère pendant la gestation[5]. L'enfant bien avant de naître peut jouer à se balancer de diverses manières, mémoriser ces séquences de jeux et, ensuite, les proposer lui-même en fonction de ce qui se passe autour de lui. Le fœtus a une grande curiosité pour ce qui se passe dans le monde qui l'entoure et a envie de jouer dès que quelque chose fait sens pour lui. Il quête activement le contact. Les bébés qui ont été accompagnés affectivement *in utero* sont en général calmes, faciles à vivre, naissent avec un tonus de posture particulier. Ils semblent disposer d'une grande confiance en eux et en l'autre. Un système nerveux utilisé pour communiquer se développe autrement que celui qui reste en friche.

Haptonomie ou pas, parents, psychanalystes et thérapeutes savent la manière dont le lien précoce marque la relation parents–enfants. La façon dont la grossesse est survenue, a été acceptée, dont elle s'est déroulée, les circonstances de la venue au monde de chaque enfant, les sentiments de peur, d'angoisse, de joie, les sentiments de culpabilité qui entourent ces périodes, tout cela colore fortement le lien qui se tisse entre l'enfant et sa famille, et à travers ce lien lui donne sécurité ou insécurité, confiance en lui et dans les autres. Il faut toutefois se méfier des bons sentiments qui nous font confondre enfant décidé consciemment et enfant désiré inconsciemment et nous poussent à croire qu'épreuves et ambivalences sont *a priori* négatives, ce qui est faux.

Après plus de 30 ans de travail comme haptothérapeute, avec les familles autour de la naissance, avec les bébés, les adolescents, les adultes, les anciens prématurés, je suis convaincue que la proto-identité de l'enfant se construit dans ces échanges sensoriels précoces avant et après la naissance. Les bruits du cœur de la mère, son souffle, les changements réguliers du goût du liquide amniotique en fonction de ce qu'elle consomme, le sifflement et l'odeur du placenta, la pulsatilité du cordon ombilical, la voix des parents, leurs mains sur le ventre, forment, dans une discontinuité rythmée, un humus affectif, fondement de son identité à venir. Il apprend à connaître les bruits familiers. On peut dire que pour l'enfant tout cela est consubstantiel de lui, de ce qui fonde son senti-

[2] Diverses banques de données en ligne très riches peuvent être consultées : www.primalhealthresearch.com ; www.birthworks.org/primal-health-research (entrer « nutrition » ou « effets émotionnels de la vie prénatale ») ; www.wombecology.com (en particulier la page « new reasons ») ; www.pubmed.com. On trouvera aussi beaucoup d'information en consultant le site Internet de la Cochrane library (www.cochranelibrary.com).

[3] Haptonomie : science de l'affectivité, découverte et développée depuis 1945 par le Néerlandais Frans Veldman.

[4] Frans Veldman, fondateur de l'haptonomie, dégage ce concept de la vie psychique en général. L'affectif, c'est la vie du sentiment, vie personnelle, intime, émotionnelle, caractéristique de la façon qu'a le sujet de considérer le monde et d'y prendre sa place.

[5] Voir le travail de Benoît Schall qui a montré notamment qu'à 30 ans, ceux dont les mères avaient consommé du ketchup à la vanille pendant leur grossesse gardaient une préférence, devenus adultes, pour ce goût particulier.

ment de sécurité ou d'insécurité, de ce qui fondera sa future identité. C'est pourquoi la mère qui porte l'enfant est si importante pour lui, elle est sa mère, sa planète d'origine. C'est pour cela qu'il est essentiel que le nouveau-né puisse le plus tôt possible dans les heures qui suivent sa naissance, inventorier ce qui, en lui et autour de lui, fait continuité entre la vie aquatique fœtale et le monde aérien. Parmi le puissant concert de stimulations sensorielles dans lequel il baigne, il a besoin de reconnaître ce qui demeure et ce qui subsiste mais transformé, et il doit renoncer à ce qui a disparu pour toujours. Il a besoin de retrouver des repères de son monde d'avant pour entrer dans cette nouvelle phase de sa vie, pour aboutir le plus tôt possible à cette conclusion, non consciente, mais essentielle pour son avenir : « Si c'est bien eux, je suis toujours bien moi. » C'est comme ça qu'un jour on peut dire « Je ». C'est là une phase essentielle de sa construction identitaire. Si elle ne peut se dérouler sereinement l'enfant ne le montrera pas sur le moment, tant l'engagement dans la croissance l'emporte dans le flux intense du devenir. Mais les failles sont là, souterraines mais réelles. Elle s'ouvriront un jour où l'autre. L'effort d'adaptation que doit faire un nouveau-né pour survivre est énorme, même quand tout se passe au mieux. Quand cette adaptation est contemporaine d'un arrachement à tout ce qui reliait l'enfant à son passé prénatal, c'est pour l'enfant une douloureuse épreuve. Potentiellement périlleuse. Comme toutes les épreuves elle peut, dans certaines circonstances, être surmontée, mais pas toujours. Adopter un enfant, c'est accueillir quelqu'un à qui il est arrivé un malheur pour l'aider à se réparer, avoir recours la gestation pour autrui (GPA), c'est organiser un malheur dans la vie d'un enfant dans le but de se l'approprier. Outre la difficulté inhérente à la séparation programmée, le malentendu entre un enfant en deuil de sa « planète mère » et des accueillants ravis n'ayant pas conscience de ce qu'ils lui imposent peut être terrible mais ne se révéler que bien plus tard, à l'adolescence ou quand cet enfant deviendra lui-même parent. C'est prendre le risque d'un effondrement ultérieur, imprévisible mais potentiellement dramatique. Et cela nous ne pouvons l'anticiper, c'est donc prendre un risque énorme pour l'avenir de ces enfants et de leur descendance.

Les événements précoces ont des effets au très long cours. Tout au long de la vie, les événements se font écho. Ainsi, les séparations d'aujourd'hui réveillent les souffrances de séparations précoces. La peur de l'abandon, vécue à la naissance se rejoue à l'adolescence, lors de l'entrée à l'âge adulte ou dans la parentalité, lors des deuils, de la ménopause, du départ des enfants, de la retraite ou de l'entrée dans la vieillesse. Disposer de son intelligence pour trouver et assumer sa place dans un groupe humain, en ayant dépassé son agressivité naturelle et surmonté ses contradictions pour agir avec les autres, est l'aboutissement d'un long processus.

Le sentiment de sécurité ressenti dès la vie prénatale et autour du premier passage de seuil que constitue la naissance, la tendresse sécurisante vécue lors des premiers mois et années résonnent tout au long de la vie, donnant à ceux qui les ont reçus une élasticité confiante face aux événements difficiles ; ce capital affectif est inestimable.

Il faut ajouter à cela l'arrière-plan de la GPA qui sert de toile de fond à ces naissances particulières. Les tractations financières, la location des ventres, les relations contractuelles qui font de l'enfant l'objet d'une transaction, porté par des femmes en détresse matérielle ou financière. On imagine facilement comment tout cela vient influencer la grossesse elle-même et les liens que l'enfant nouera avec ses parents officiels. Le contexte très particulier dans lequel se déroulent ces grossesses et ces accouchements ne peut que nous alarmer et nous inviter à la plus grande prudence.

Note du coordonnateur

Un article en faveur de la gestation pour autrui a été demandé à l'Académie de médecine qui n'a pas donné suite.

Références

[1] Dolto F. Psychanalyse et pédiatrie. Thèse de médecine 1939. Paris : Le Seuil ; 1971.
[2] Winnicott DW. De la pédiatrie à la psychanalyse. Paris : Payot et Rivages ; 1969.
[3] Abraham N, Torok M. L'écorce et le noyau. Coll. Champs essais. Paris : Flammarion ; 1978.
[4] Ancelin Shustenberger A. Aïe mes aïeux. Paris : Desclée de Brouwer ; 1988.
[5] de Mijolla A. Les visiteurs du moi. Paris : Les Belles lettres ; 2003.
[6] Veldman F. Haptonomie science de l'affectivité. 9e éd Paris : PUF ; 2007.
[7] Decant-Paoli D. L'haptonomie. 5e éd. Paris : PUF ; 2014. Coll. Que sais-je ? no 3626.

Le couple de femmes homosexuelles

CHAPITRE 44

C. Giguère, I.-J. Kadoch

Historiquement, la procréation médicalement assistée (PMA) a été réservée essentiellement aux couples hétérosexuels en prise avec une infertilité d'origine médicale. Les femmes célibataires, les couples homosexuels ainsi que les personnes transgenres se prévalent d'une infertilité sociale, et sont de plus en plus nombreux à demander l'accès à ces services pour fonder une famille. Nous nous intéresserons ici plus particulièrement aux couples de femmes homosexuelles qui souhaitent concevoir grâce à un don de sperme.

Homoparentalité et procréation médicalement assistée

Les lois et pratiques en vigueur concernant l'éligibilité aux services de procréation assistée des couples de femmes homosexuelles varient de façon significative d'un pays à l'autre. On constate un accès élargi aux femmes célibataires ou en couple homosexuel dans les pays suivants : Belgique, Canada, Danemark, Espagne, États-Unis, Finlande, Grèce, Israël, Norvège, Pays-Bas, Royaume-Uni, Russie et Suède. Ainsi, en Europe, il existe une grande diversité des cadres légaux entourant la procréation assistée et encourageant, par conséquent, le tourisme reproductif. Par exemple, on estime que des centaines de couples de femmes homosexuelles de nationalité française se rendent en Belgique et en Espagne chaque année pour recevoir des traitements de procréation assistée afin de contourner la loi française qui ne donne accès à ces traitements qu'aux couples hétérosexuels présentant une infertilité de nature médicale [1].

Diverses considérations d'ordre éthique sont au cœur du débat entourant l'éligibilité des couples de femmes homosexuelles à la procréation assistée. Notons, notamment, la question de la légitimité d'offrir ou de rembourser des services médicaux pour répondre à une infertilité qui est *a priori* d'origine sociale plutôt que médicale. Aussi, les principes de droit à la reproduction et à la non-discrimination sont inhérents aux réflexions portant sur l'accessibilité aux services de procréation assistée pour les couples homosexuels [2]. Au Québec, la Charte des droits et libertés de la personne empêcherait de refuser l'accès aux traitements aux personnes homosexuelles.

Plusieurs auteurs notent également la prépondérance dans ce débat des préoccupations pour le bien-être des enfants conçus et élevés dans une famille homoparentale, c'est-à-dire de parents de même sexe. Fond *et al.* [3] notent avec justesse dans leur revue de la littérature scientifique récente sur l'homoparentalité que « si la question de l'homoparentalité divise, c'est qu'elle fait appel à nos représentations sur ce dont l'enfant aurait besoin pour se construire ». Ces représentations étant issues en grande partie de la culture et de l'éducation, elles sont dans une certaine mesure relatives et en évolution constante.

Il existe un corpus de recherches scientifiques sur le développement des enfants qui grandissent au sein de familles de femmes homosexuelles. Les études s'intéressent de plus en plus à des échantillons variés en termes de caractéristiques démographiques et d'appartenance géographique et couvrent le développement de ces enfants jusqu'à l'âge adulte. De façon générale, ces études nous apprennent que le développement cognitif, social, émotionnel et sexuel ainsi que l'identité de genre et l'orientation sexuelle des enfants ayant des mères homosexuelles sont généralement comparables à ceux des enfants issus de couples hété-

rosexuels et que ceux-ci deviennent des adultes bien adaptés [2, 4, 5]. Il est à noter que la plupart de ces études portent sur des enfants issus d'une relation hétérosexuelle, la mère s'étant par la suite investie dans une relation homosexuelle. Les études scientifiques sur les familles planifiées de mères homosexuelles (c'est-à-dire un couple de femmes qui ont choisi de fonder une famille grâce à la procréation assistée ou à l'adoption) sont moins nombreuses, mais arrivent essentiellement à la même conclusion [6]. Par ailleurs, la recherche tend à démontrer l'hypothèse selon laquelle les enfants et adolescents issus de familles de femmes homosexuelles sont susceptibles de vivre certaines formes de stigmatisation par leurs pairs. Par contre, différents facteurs de protection sont actuellement mis à jour comme les comportements de recherche de support social et la qualité de la relation parent–enfant pour expliquer la résilience de cette population [7].

À la lumière des données scientifiques citées ci-dessus, les comités d'éthiques spécialisés de l'*American Society for Reproductive Medecine* (ASRM) et de l'*European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) proposent des recommandations positives concordantes pour l'accès en procréation médicalement assistée des couples de femmes homosexuelles : « considérant les éléments scientifiques disponibles, nous ne croyons pas qu'il soit possible d'affirmer raisonnablement qu'une personne seule ou des gais et lesbiennes soient susceptibles de nuire à leurs enfants en concevant en dehors des relations maritales hétérosexuelles » [2] et « il ne semble pas fondé de demeurer inquiets du bien-être des enfants de ce type de famille – ces inquiétudes pourraient même refléter un préjugé sous-jacent persistant ou une aversion morale » [8].

Parcours des couples de femmes homosexuelles en procréation assistée

Les couples de femmes homosexuelles qui souhaitent fonder une famille bénéficient de diverses options pour le faire. Celles qui choisissent de se tourner vers la procréation médicalement assistée souhaitent recevoir un traitement avec don de sperme pour concevoir. Ce type de projet parental mène à un parcours singulier lié, notamment, à la nature du couple et à la structure familiale en devenir. Les particularités de ce parcours seront discutées dans cette section.

Tout d'abord, le couple de femmes homosexuelles qui souhaite concevoir grâce à un don de sperme doit résoudre la question du choix de la partenaire qui recevra les traitements et, de fait, deviendra la mère biologique de l'enfant à venir. L'autre partenaire prendra alors le rôle de la mère non biologique, parfois appelée mère sociale. Cette décision peut être compliquée par des enjeux légaux dans les pays qui ne reconnaissent pas de droit parental à la mère non biologique. Par ailleurs, nous constatons cliniquement qu'un déterminant central du choix de la conjointe qui recevra les traitements au sein du couple est le désir de vivre la maternité biologique (c'est-à-dire, la grossesse, l'accouchement et l'allaitement) de chaque partenaire. Lorsqu'une des partenaires y est très intéressée alors que l'autre l'est peu ou pas, le choix de la conjointe qui recevra les traitements est d'emblée simple à faire. Par contre, lorsque les deux conjointes d'un couple souhaitent devenir enceinte le choix de celle qui recevra les traitements dépendra de divers déterminants. Les études sur le sujet et notre expérience clinique identifient l'âge, la santé physique, la fertilité et les facteurs liés à l'emploi (par exemple, les conditions de travail et la sécurité d'emploi) comme importants dans cette décision [9, 10].

Par ailleurs, la procréation assistée chez les couples de femmes homosexuelles nécessite l'apport d'un donneur. Le choix du donneur est, avant tout, une décision de couple qui interpelle les conjointes dans leurs valeurs, leurs perceptions des besoins de l'enfant et leurs conceptions de la famille et de la parentalité. Au Canada, le donneur peut être connu du couple, il s'agira alors d'un don dirigé provenant généralement d'un ami ou d'une connaissance [11]. Les couples qui optent pour un donneur connu le font généralement dans l'objectif d'offrir à leur enfant un repère clair dès que la question de l'identité du géniteur se posera [12]. Certaines souhaitent aussi que le donneur puisse construire une relation avec l'enfant dont les balises seront à discuter. En effet, le choix d'un donneur connu amène certaines complexités

au plan de la structure et des frontières familiales. Ainsi, les couples et leur donneur devront idéalement discuter des attentes et rôles de chacun face à l'enfant à venir et s'entendre [11].

La plupart des couples de femmes homosexuelles (par exemple, 94 % des couples belges) optent pour un donneur inconnu [9, 13]. Le choix d'un donneur inconnu est généralement fait dans le but de préserver l'intégrité des frontières familiales et de protéger le rôle et les droits de la mère non biologique [12]. Il existe deux types de donneurs inconnus : les donneurs anonymes et les donneurs inconnus dont l'identité pourra être transmise à l'enfant à sa majorité s'il le demande (donneurs à identité ouverte ou *open-ID*). Notons que l'accès aux deux types de donneurs inconnus est différent d'un pays à l'autre (par exemple, le Royaume-Uni interdit l'accès au donneur anonyme). Par ailleurs, la littérature démontre que la majorité des enfants ayant un donneur à identité ouverte souhaitent éventuellement le contacter et expriment de la curiosité face à ses caractéristiques physiques, à sa personnalité et à sa famille [12, 13]. Finalement, Bos et Gartrell ont publié la seule étude, à notre connaissance, portant sur l'impact du statut du donneur (connu ou inconnu) sur le bien-être et le développement (de 10 à 17 ans) des enfants de couples de femmes homosexuelles. L'étude ne démontre pas de différence notable entre les adolescents ayant un donneur connu et ceux qui ont un donneur inconnu [12].

Traitements de procréation assistée spécifiques aux couples de femmes homosexuelles

La nature même des couples de femmes homosexuelles implique que celles-ci ont des potentialités uniques en termes de procréation assistée. Pensons aux couples dont les conjointes souhaitent recevoir des traitements pour concevoir en même temps. Il n'existe, à notre connaissance, aucun corpus de littérature scientifique sur le devenir de ces familles (par exemple, les configurations d'attachement entre les membres de la famille, le développement de la parentalité, les conséquences sur le support conjugal disponible pour les mères, la construction de l'identité des enfants) qui pourraient guider une prise de position avisée sur ces demandes.

La maternité biologique partagée est une autre avenue de procréation assistée unique aux couples de femmes homosexuelles dont les deux partenaires souhaitent participer biologiquement au projet parental. Ainsi, les ovocytes d'une des partenaires sont recueillis suite à une stimulation ovarienne contrôlée, puis un embryon issu de la fécondation de ces ovocytes par du sperme de donneur est implanté dans l'utérus de l'autre partenaire. Marina *et al.* décrivent la technique telle qu'elle est utilisée en Espagne depuis 2007, ainsi que le rationnel éthique pour l'offrir [14]. De cette façon, les deux conjointes d'un même couple peuvent partager avec leur enfant un lien biologique : l'une devient la mère génétique de l'enfant, alors que l'autre en est la mère gestationnelle. Par contre, cette option de traitement, lorsqu'on la compare au standard de l'insémination intra-utérine par don de sperme, présente un potentiel inhérent de risques et de coûts plus élevés étant donné la complexité accrue du processus. À notre connaissance, il n'existe pas à ce jour de littérature sur le devenir des familles et des enfants issus de ce type de traitement. Zieler et Malmquist ont une réflexion éthique approfondie des avantages et inconvénients de l'utilisation de cette technique avec ou sans indication médicale [15]. Dans notre institution, le don d'ovocytes entre conjoints n'est autorisé que lorsqu'il existe une indication médicale de don d'ovocytes chez la future mère biologique.

Conclusion

Les femmes homosexuelles en couple sont nombreuses à souhaiter fonder une famille et la procréation assistée leur offre des options très avantageuses pour le faire. En effet, elle peut permettre à ces femmes de concevoir dans un cadre médical plus sécuritaire que l'insémination dite artisanale (c'est-à-dire avec du sperme obtenu d'une connaissance ou acheté) en évitant les risques d'infections transmises sexuellement. De plus, elle offre la possibilité pour les couples de préserver leur frontière familiale en optant pour

un donneur provenant d'une banque de sperme. Aussi, contrairement à l'adoption, elle permet aux femmes qui le désirent de vivre l'expérience de la maternité biologique. De plus, rappelons que le corpus de littérature scientifique sur les enfants issus de familles planifiées de femmes homosexuelles dresse un portrait positif de leur développement et de leur bien-être. On peut donc penser que la popularité de la procréation assistée va continuer à augmenter chez les couples de femmes homosexuelles.

Par contre, la procréation assistée pour les couples de femmes homosexuelles nécessitant l'apport d'un donneur et la nature des familles ainsi créées sont plus complexes et justifient la nécessité d'un *counseling* approprié afin d'informer, préparer et soutenir les couples qui souhaitent entreprendre ce type de démarche. Des lignes directrices ont d'ailleurs été développées dans plusieurs pays afin d'aider les médecins et les professionnels de la santé à faire cet important travail auprès des couples de femmes homosexuelles (par exemple, par l'ESHRE et l'ASRM). Aussi, la recherche scientifique a encore beaucoup à nous apprendre sur ces nouvelles structures familiales afin de nous permettre de mieux répondre aux besoins des familles homoparentales et plus particulièrement à ceux des enfants en étant issus.

Références

[1] Van Hoof W, Pennings G, De Sutter P. Cross-border reproductive care for law evasion : a qualitative study into the experiences and moral perspectives of French women who go to Belgium for treatment with donor sperm. Social Science and Medecine 2015 ; 124 : 391–7.

[2] Ethics Committee ASRM. Access to fertility treatment by gays, lesbians and unmarried people : a committee opinion. Fertil Steril 2013 ; 100 : 1524–7.

[3] Fond G, Franc N, Purper-Ouaki D. Homoparentalité et développement de l'enfant : données actuelles. L'Encéphale 2012 ; 38 : 10–5.

[4] American Psychological Association. Lesbian and gay parenting ; 2005. En ligne http://www.apa.org/pi/lgbt/resources/parenting-full.pdf.

[5] Perrin EC, Siegel BS. Promoting the well-being of children whose parents are gay or lesbian. Pediatrics 2013 ; 131 : e1374–83.

[6] Bos H, van Balen F. Children of the new reproductive technologies : social and genetic parenthood. Patient Education and Counseling 2010 ; 81 : 429–35.

[7] Bos H, Gartrell N. Adolescents of the USA National Longitudinal Lesbian Family Study : can family characteristics counteract the negative effects of stigmatization ? Family Process 2010 ; 49 : 559–72.

[8] De Wert G, Dondorp W, Shenfield F, et al. ESHRE Task Force on Ethics and Law 23 : medically assisted reproduction in singles, lesbian and gay couples, and transsexual people. Human Reproduction 2014 ; 29 : 1859–65.

[9] Fossoul C, D'Amore S, Miscioscia M, Scali T. La transition à la parentalité chez les couples homosexuels : une étude exploratoire. Thérapie Familiale 2013 ; 34 : 265–83.

[10] Renaud MT. We are mothers too : childbearing experiences of lesbian families. J Obstet Gynecol Neonatal Nurs 2007 ; 36 : 190–9.

[11] Goldberg AE, Allen KR. Donor, dad, or… ? Young adults with lesbian parents' experiences with known donors. Fam Process 2013 ; 52 : 338–50.

[12] Bos H, Gartrell N. Adolescents of the USA National Longitudinal Lesbian Family Study : the impact of having a known or an unknown donor on the stability of psychological adjustment. Human Reproduction 2011 ; 26 : 630–7.

[13] Kramer W, Beeson DR, Jennings PK. Anonymity, Disclosure, and contact with donors : how experiences of donor-conceived offspring vary by family type. Fertil Steril 2010 ; 94 : S170.

[14] Marina S, Marina D, Marina F, et al. Sharing motherhood : biological lesbian co-mothers, a new IVF indication. Human Reproduction 2010 ; 25 : 938–41.

[15] Zeiler K, Malmquist A. Lesbian shared biological motherhood : the ethics of IVF with reception of oocytes from partner. Medicine, Health Care and Philosophy 2014 ; 17 : 347–55.

Âge féminin, âge masculin : quelques réflexions en matière d'assistance médicale à la procréation ?

Chapitre 45

F. Olivennes

L'âge de la femme et la réponse ovarienne sont les deux facteurs principaux de pronostic des taux de succès en assistance médicale à la procréation (AMP). Ce sont les résultats en insémination avec donneur de sperme qui ont mis en évidence la décroissance des taux de grossesses en fonction de l'âge de la femme. Plus tard, ces résultats ont été confirmés dans le cadre de la fécondation *in vitro* (FIV), des inséminations intra-utérines avec sperme du conjoint (IAC) et des stimulations ovariennes [1]. La baisse du taux de grossesses avec l'âge féminin est liée à la qualité ovocytaire. Ceci a été clairement démontré par le résultat du don d'ovocytes, qui ne varie pratiquement pas avec l'âge de la receveuse, si la donneuse est jeune [2].

Les résultats des techniques d'AMP suivent une décroissance modérée des taux de grossesses à partir de 35 ans. Cette baisse s'accroît à partir de 38 ans et les résultats deviennent vraiment très faibles au-delà de 42–43 ans (< 10 %).

Il existe cependant une variation importante de la réserve ovarienne entre les femmes d'âge égal. À l'extrême de la vie reproductive, l'âge de la ménopause varie physiologiquement entre 40 et 60 ans et l'infertilité semble suivre une courbe parallèle avec des femmes ménopausées à 30 ans, et d'autres ayant un capital folliculaire étonnamment conservé à 45 ans. Cependant, même avec une bonne réserve ovarienne, le taux de grossesses obtenu chez une femme de 43 ans reste très inférieur à celui d'une femme jeune. Se rajoute au taux faible d'implantation embryonnaire, un taux de fausses couches spontanées qui suit la courbe inverse des taux de grossesses et qui atteint environ 40 % vers 40 ans.

Ces mauvais taux de succès posent un problème éthique indéniable qui « hante » les congrès et les services de FIV depuis que cette technique existe. Pour certains, toute chance vaut la peine d'être tentée : « Essayer donne plus de chances que de ne rien faire. » Pour d'autres, des taux de grossesse trop faibles doivent impliquer une abstention thérapeutique au nom de la balance bénéfice/risque. Cet épineux dilemme est aggravé par les nombreuses publications qui montrent que la plupart de nos tests pronostics (*follicle-stimulating hormone* ou FSH, *anti-mullerian hormone* ou AMH, compte de follicules antraux ou CFA) semblent très bien corrélés à la réponse ovarienne mais très peu aux taux de grossesses [3]. Il semble donc impossible aujourd'hui de prédire avec certitude qu'une patiente sera ou ne sera pas enceinte en fonction de l'évaluation de sa fonction ovarienne. Bien sûr il existe une corrélation entre la réponse ovarienne et le taux de grossesses, en particulier chez les femmes dites âgées, mais récuser une femme sur ces examens complémentaires est difficile.

Il me semble que l'attitude à la fois éthique et scientifique consiste à appliquer une politique raisonnable. Évaluer la réserve ovarienne est indispensable avant de prendre en charge une

femme en AMP et tout particulièrement si elle est âgée de plus de 38 ans. Dans les cas où l'insuffisance ovarienne est majeure (CFA total < 5 ; FSH > 15 ; AMH < 0,5), la prise en charge en AMP, surtout s'il n'y a aucun autre facteur d'infertilité, est discutable. Il peut être parfois utile de proposer un essai de traitement pour montrer à la femme que l'ovaire ne répond pas au traitement. Il faut alors savoir fixer des limites de prise en charge en termes de réponse ovarienne. Plusieurs publications montrent que les taux d'accouchement avec moins de cinq ovocytes récupérés sont proches de zéro. La limite se situe probablement autour de trois à cinq ovocytes. Cependant, pour les défenseurs de l'absence de limite à la prise en charge, des taux de grossesses de 2 ou 3 % méritent de mener à terme les traitements. Pour ma part, je pense que l'abstention thérapeutique doit être la règle en dehors des véritables indications de FIV ou d'ICSI *(intracytoplasmic sperm injection)* – trompes bouchées, oligo-asthéno-tératospermies sévères – où quelques essais peuvent être justifiés.

Ce qui me paraît le plus choquant, et que je rencontre très fréquemment dans des dossiers vus pour deuxième avis, c'est la multiplication des essais (jusqu'à six ou sept !) avec des résultats catastrophiques (entre deux et cinq ovocytes mûrs). Les taux de grossesses sont alors dérisoires et la prise en charge itérative de ces patientes pose à mon sens deux problèmes majeurs. D'une part, l'innocuité des stimulations très fortes (le plus souvent prescrites) chez des femmes « âgées » n'est pas démontrée. Certes il n'y a pas de publications inquiétantes sur ce groupe de patientes, mais ces patientes sont peu nombreuses et peu étudiées. D'autre part, les effets psychologiques de ces échecs à répétition sont très importants. Il me semble avec le recul que les arguments des médecins adeptes de ces prises en charge consistant à redouter les répercussions de l'arrêt (ou du refus) de prise en charge ne tiennent pas au regard de l'effet des échecs répétés. Cela retarde par ailleurs la mise en place d'alternatives possibles pouvant être proposée aux patientes.

La bonne attitude semble donc à mes yeux de : récuser les patientes « âgées » avec des résultats véritablement catastrophiques ; expliquer aux patientes aux résultats « raisonnablement mauvais » que l'AMP a peu de chance d'augmenter leur probabilité naturelle (en dehors de facteurs de stérilité associés) ; proposer un essai de prise en charge, mais éviter absolument l'acharnement thérapeutique pour les femmes avec une faible réponse ovarienne et un âge supérieur à 38 ans.

Il n'existe pas à ce jour de méthodes permettant de s'affranchir du facteur limitant que constitue l'âge de la femme. Récemment, l'analyse de la totalité des chromosomes embryonnaires a permis un net progrès en éliminant tous les embryons aneuploïdes pour ne transférer que des embryons chromosomiquement normaux [4]. Cependant, les résultats préliminaires montrent que le nombre d'embryons anormaux est très élevé, en particulier chez les femmes à faible réserve ovarienne, et que le nombre de femmes n'ayant aucun embryon normal est en moyenne de 50 %. De plus, le taux de grossesses obtenu avec ces embryons normaux chez ces femmes « âgées » plafonne à 40 %, montrant que les facteurs chromosomiques ne sont pas les seuls déterminants des limites liées au vieillissement ovocytaire. Rappelons ici que cette technique est interdite en France et le demeurera probablement longtemps, compte tenu du caractère très rétrograde de la loi française en matière d'AMP et tout particulièrement pour les techniques s'appliquant à l'embryon.

La seule méthode permettant de s'affranchir du rôle de l'âge maternel est le don d'ovocytes. L'utilisation des ovocytes d'une femme jeune permet probablement d'obtenir une grossesse à tout âge si l'utérus est normal. Le don d'ovocytes permet donc de contrecarrer la fameuse horloge biologique, et toute femme désireuse d'enfant peut, en théorie, obtenir un enfant. Les études présentées par certains grands groupes de centres de don d'ovocytes montrent qu'au bout de quatre essais de don, 95 % des couples dont la femme a un utérus normal ont eu une grossesse [5]. Il s'agit donc d'une quasi-garantie de bébé ! Si le don d'ovocytes a longtemps concerné les femmes atteintes de ménopause précoce idiopathique ou iatrogène et les femmes atteintes d'anomalies génétiques graves transmissibles, force est de constater qu'il répond aujourd'hui à la demande croissante des femmes de plus de 40 ans qui souhaitent avoir un enfant et ne peuvent le concevoir naturellement ou ont échoué à de multiples tentatives d'AMP. Le décalage de l'âge de la première grossesse et le fort taux de deuxièmes unions lié à l'incidence des divorces sont les principales causes de ces

demandes de grossesses tardives. Le recours au don d'ovocytes permet virtuellement aujourd'hui à toute femme d'avoir un enfant (le record est détenu par une indienne de 72 ans !). Il n'est aujourd'hui pas rare de voir des femmes de plus de 45 ans venir consulter pour un désir de grossesse. Ces grossesses posent les problèmes des risques obstétricaux liés aux grossesses tardives et les questions liées au bien-être de l'enfant à naître.

Pour les risques obstétricaux, l'incidence des complications cardiovasculaires et du diabète augmente avec l'âge de la femme. Bien sûr, le suivi attentif de la grossesse permet de diminuer la survenue de complications graves mais leur incidence est cependant clairement augmentée, en particulier au-delà de 45 ans.

Concernant le développement des enfants, les pédopsychiatres insistent sur les difficultés potentielles pour l'enfant d'avoir une mère âgée. Mais les études scientifiques sont quasi inexistantes et les réticences se basent surtout sur des positions théoriques ou sur des observations personnelles de quelques cas. Les études font cruellement défaut pour étayer des décisions souvent difficiles à prendre. Les pouvoirs publics n'ont pas aidé les médecins en mentionnant dans la loi de bioéthique que la femme doit être « en âge de procréer » et aucune limite chiffrée n'a été fixée. Certains pays européens ont fixé à 50 ans l'âge maximum auquel une femme peut avoir recours à l'AMP, don d'ovocytes compris. Le médecin se retrouve finalement souvent seul à prendre une décision au cas par cas.

Si l'âge de la femme constitue un facteur physiologique crucial en reproduction, l'âge paternel n'influe pas de manière aussi importante sur l'aptitude à la procréation. Certes l'âge paternel diminue la qualité du sperme, augmente le risque de malformation et semble augmenter les risques de maladie mentale (en particulier d'autisme et de schizophrénie) [6]. Les problèmes d'impuissance sont aussi plus fréquents. Mais il n'y a pas de véritable arrêt des possibilités de reproduction et ces complications se font jour à un âge plus avancé que pour la femme.

Il n'y a pas cependant, comme chez la femme, de débats fournis sur un âge limite de prise en charge des hommes pour des raisons médicales. Même si pour certains, les publications récentes sur les risques psychiatriques pour la descendance pourraient constituer un motif de refus.

Cependant en dehors du problème médical, se pose un problème plus éthique ou plus psychopédagogique qui lui fait l'objet de débats nourris : existe-t-il un âge paternel préjudiciable au bon développement de l'enfant ?

Cette question est rendue d'actualité par les refus récents et répétés de l'Agence de la biomédecine (ABM) opposés à des hommes de plus de 60 ans désireux d'exporter à l'étranger leurs paillettes de sperme autoconservées dans le cadre d'un projet d'AMP débuté en France et considéré par cette instance comme trop âgés pour avoir un enfant.

La question de l'âge du père en AMP a toujours fait débat dans les centres d'AMP. Certains centres ont établi des limites d'âge du conjoint (60, 65, 70 ans) au-delà duquel les couples ne sont plus pris en charge. Pour d'autres, le préalable d'un entretien psychologique est une condition *sine qua non*. Pour d'autres enfin aucune limite n'est opposée aux couples.

En faveur d'une limite d'âge interviennent un certain nombre de pédopsychiatres, arguant de la célèbre maxime : « Il y a un âge pour être père et un âge pour être grand-père. » Avoir un père âgé pourrait retentir sur le bien-être de l'enfant, tout particulièrement au moment de l'adolescence et de la fameuse opposition au père.

Dans les cas extrêmes (hommes de plus de 70 ans) se pose aussi le potentiel décès précoce du père, à un âge où l'enfant est encore petit. Les études sont cependant peu nombreuses dans le cadre particulier de la stérilité pour étayer ces positions de principe.

Dans le cadre des couples dont le conjoint est âgé, il n'y a, contrairement à la femme, aucun risque médical de la grossesse pour le conjoint et ces hommes se présentent souvent avec des femmes en âge de procréer, donc jeunes. L'enfant ainsi conçu n'aura pas forcément deux parents âgés.

Le problème principal tient au fait que la reproduction d'un homme âgé est possible naturellement. Yves Montand, Charlie Chaplin et Anthony Quinn en sont les exemples connus. Les unions entre femmes jeunes et hommes plus âgés, voir très âgés, sont aussi fréquentes par exemple au Maghreb ou en Amérique du Sud.

L'AMP doit-elle s'arroger le droit de définir un âge limite de procréation pour les hommes ? Et si oui, quel âge ? Selon quel critère et pour quel motif ? Ces motifs sont-ils scientifiquement établis ?

Au total, il semble que fixer une limite à l'âge de l'homme est probablement difficile voire impossible. Aider à procréer un homme âgé ne correspond pas, le plus souvent, à un contournement d'une impossibilité physiologique mais à la prise en charge d'une infertilité classique.

Les limites arbitraires que se fixent certains centres pourraient s'apparenter à un refus de soins et il sera intéressant de voir le jugement qui sera rendu dans le procès que semble avoir décidé d'entamer l'un des hommes qui a essuyé un refus de l'ABM pour l'exportation de ces paillettes.

De plus, on oublie souvent de parler du couple. En effet, il est clair que la femme associée à ce désir de grossesse ne peut ignorer les aléas liés à l'âge de son conjoint.

Il n'en demeure pas moins que prendre en charge ces couples sans aucune limite paraît également exclu. À mon avis, la meilleure solution est la décision au cas par cas. Le recours à un entretien psychologique systématique à partir d'une certaine limite d'âge (55, 60, 65 ans) a le mérite de sensibiliser le couple aux enjeux pour l'enfant à naître. Enfin il n'est pas non plus impossible de refuser la prise en charge des cas extrêmes ou des cas où la santé de l'homme est dégradée. Mais là encore, éviter les jugements arbitraires est très délicat.

Enfin, le don d'ovocytes fait apparaître une demande aujourd'hui rare, mais qui tend peu à peu à augmenter. C'est l'association d'une femme âgée (> 45 ans) à un homme également âgé, se cumulent alors pour les enfants potentiels les différents problèmes évoqués plus haut auxquels se rajoutent les risques obstétricaux pour la femme.

En conclusion, les comités d'éthique clinique mettent en avant trois principes fondamentaux dans les réflexions qu'ils engagent sur les problèmes médicaux : respect de l'autonomie, non-malfaisance et justice. Il semble clair que le principal point litigieux soit la non-malfaisance, mais que ce principe s'applique à l'enfant à naître. Des études sur le développement de ces enfants conçus chez des couples dont le père ou la mère (ou les deux !) sont âgés nous aideraient à définir une attitude scientifique et non morale et subjective. Le nombre de ces couples est cependant faible pour réaliser des études pertinentes. Pour éviter les éternels débats intra-centres et les disparités nationales sur les critères de prise en charge, des règles de bonne pratique mériteraient d'être définies. Mais au regard de la législation française et de ses limites actuellement très restrictives, il est clair que la position qui pourrait être choisie ne serait probablement pas très permissive.

Références

[1] Schwartz D, Mayaux MJ. Female fecundity as a function of age : results of artificial insemination in 2193 nulliparous women with azoospermic husbands. Federation CECOS. N Engl J Med 1982 ; 306 : 404–6.

[2] Remohí J, Gartner B, Gallardo E, et al. Pregnancy and birth rates after oocyte donation. Fertil Steril 1997 ; 67 : 717–23.

[3] Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, et al. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. Hum Reprod Update 2006 ; 12 : 685–718.

[4] Wells D, Kaur K, Grifo J, et al. Clinical utilisation of a rapid low-pass whole genome sequencing technique for the diagnosis of aneuploidy in human embryos prior to implantation. J Med Genet 2014 ; 51 : 553–62.

[5] Garrido N, Bellver J, Remohí J, et al. Cumulative newborn rates increase with the total number of transferred embryos according to an analysis of 15,792 ovum donation cycles. Fertil Steril 2012 ; 98 : 341–6.

[6] Sharma R, Agarwal A, Rohra VK, et al. Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring. Reprod Biol Endocrinol 2015 ; 13 : 35.

L'implantation améliorable ?

Chapitre 46

N. Lédée

Les taux de naissances vivantes après transfert d'embryons recensé sur la base de 60 000 tentatives annuelles de fécondation *in vitro* (FIV)/*intracytoplasmic sperm injection* (ICSI) en France (rapport de l'Agence de la biomédecine 2007–2010) stagnent à 23 % après ICSI, 22 % après FIV avec un taux d'implantation moyen se situant encore aux alentours de 15 à 20 % de grossesses par embryon transféré. L'espace de progrès est donc considérable. Pourtant, jusqu'à présent, la réceptivité utérine au sens d'une évaluation biologique de l'aptitude utérine maternelle à recevoir un embryon n'est pas intégrée dans la prise en charge basique d'une infertilité. De manière récente néanmoins, plusieurs voies d'innovation ont vu le jour avec pour objectif commun une meilleure compréhension du phénomène de préparation utérine maternelle à l'implantation afin de personnaliser et d'optimiser les succès. L'ensemble de ces démarches est néanmoins basé sur un concept commun. La réussite d'une implantation embryonnaire repose sur un tripode que constituent la qualité embryonnaire, la réceptivité utérine et la synchronisation des stades de développement entre embryon et endomètre.

Réceptivité utérine ou préparation de l'utérus à l'implantation : ce qu'il faut savoir

Chez la femme, l'utérus présente une préparation autonome de la muqueuse endométriale et du stroma afin d'accueillir un blastocyste 130 à 140 h après la fécondation. Sous l'effet de la progestérone produite après l'ovulation, l'endomètre subit des modifications structurelles et moléculaires permettant potentiellement à un embryon compétent de s'implanter au cours de cette fenêtre [1, 2]. La fenêtre d'implantation est censée s'ouvrir 4 jours après l'ovulation et se fermer 9 jours après l'ovulation [3]. En dehors de cette fenêtre très précise, l'endomètre est réfractaire à toute implantation et a pour simple mission de défendre l'utérus de toute infection et/ou agression extérieure. L'implantation humaine débute par l'apposition des épithéliums du blastocyste et de l'endomètre suivie de l'adhésion de l'embryon à l'endomètre. Cette phase requiert une réactivité de part et d'autre avec localement la nécessité d'une réaction « pseudo-inflammatoire » transitoire pour permettre cette adhésion. Cette phase d'adhésion se poursuit par une phase d'invasion extrêmement profonde de la matrice maternelle par les cellules du trophoblaste allant jusqu'au remplacement des cellules endothéliales des artères spiralées endométriales par le trophoblaste extravilleux. On compare souvent cette phase à celle d'un envahissement cancéreux extrêmement bien régulé et contrôlé dans l'espace et le temps. Sur un plan immunologique, l'implantation est parfois comparée à une semi-allogreffe (l'embryon étant génétiquement différent de sa mère) nécessitant la mise en place d'une tolérance immunitaire localisée. D'autres chercheurs réfutent le terme de tolérance immunitaire (car le phénomène est limité à l'utérus et limité dans le temps) pour envisager un système de symbiose régulée. Contrairement à la plupart des espèces animales, l'endomètre va

subir une décidualisation non déclenchée par la présence de l'embryon, à chaque cycle en préparation à une éventuelle implantation. C'est sur cette base que des explorations endométriales avant conception dans l'espèce humaine sont justifiables. La décidualisation de l'endomètre en phase lutéale moyenne (période de réceptivité utérine), au sens large ou nous l'entendons, est ce phénomène post-ovulatoire de remodelage endométrial qui inclut la transformation sécrétoire des glandes, l'arrivée de cellules de l'immunité innée et un remodelage de la paroi des artères spiralées. Ces événements immunologiques fondamentaux vont être essentiels pour permettre l'implantation. On observe ainsi un *switch* quasi complet de toutes les cellules immunocompétentes endométriales à cette phase du cycle. Alors qu'en phase proliférative, l'endomètre est envahi de lymphocytes B et de lymphocytes T CD8 visant à défendre l'intégrité de la muqueuse, en fenêtre d'implantation ces acteurs fuient pour être remplacés par des acteurs de l'immunité innée – les cellules utérine *natural killer* (uNK) notamment, mais aussi les cellules dendritiques – et les cellules T régulatrices faisant le lien avec les acteurs de l'immunité adaptative. L'influx en phase lutéale des cellules uNK est un élément constructif, essentiel dans le processus implantatoire contrairement à ce que l'on pensait précédemment [4]. C'est cette mobilisation cellulaire qui permet le dialogue immunotrophique cellulaire à l'origine des mécanismes de croissance du fœtus grâce notamment à l'établissement d'un réseau vasculaire placentaire adapté. Ces cellules uNK sont particulières dans leur phénotype et dans leur fonction et se distinguent des cellules NK sanguines [5–7]. En effet, leur première fonction est de réguler localement la sécrétion de cytokines à prédominance Th-2 pour favoriser l'angiogenèse locale placentaire. Ces cellules spontanément ne sont pas destinées à tuer le non-soi (ici l'embryon) comme les cellules NK circulantes. À l'interface materno-embryonnaire, c'est la nature de l'environnement et l'équilibre cytokinique entre cytokine Th-1 et Th-2 qui déterminent les fonctions normales (immunotrophique, angiogénique) ou anormales (cytotoxique et pro-apoptotique) favorisant ou nuisant à l'implantation et la gestation [8, 9].

Implantation améliorable par l'établissement de profils immunitaires utérins avant conception

L'établissement de profil utérin en phase lutéale moyenne en période de réceptivité utérine permet de vérifier qu'un certain nombre d'événements censés de dérouler a cette phase ont bien eu lieu et que l'équilibre cytokinique local permet un fonctionnement normal des cellules immunitaires.

Très schématiquement, les femmes en échec d'implantation présentent parfois des tableaux opposés pouvant expliquer l'échec d'implantation malgré une qualité embryonnaire correcte [10] :

- soit on observe une **sur-activation** locale se manifestant par un excès de cellules uNK et/ou un excès de cytokines pro-inflammatoires Th-1 non immunorégulées localement. L'embryon est alors très vraisemblablement reconnu comme étranger et détruit. L'endomètre subit une apoptose endométriale importante conduisant à son autodestruction. Ce profil peut être impliqué dans les échecs d'implantation mais aussi les fausses couches à répétition inexpliquées par les bilans standard;
- soit on observe une **sous-activation** locale se manifestant par un déficit de mobilisation des uNK et/ou une immaturité cellulaire (IL-15 basse) et/ou un défaut de sécrétion de cytokine angiogénique (IL-18) : il n'existe alors pas l'expression minimale pour permettre l'adhésion embryonnaire et le développement d'un réseau vasculaire adapté. Ce profil s'accompagne souvent d'une hypovascularisation locale. L'échec résulte d'une absence d'adhésion de l'embryon et d'une angiogenèse locale insuffisante.

Nous avons fait des profils immunitaires utérins chez une cohorte de 311 femmes ayant présenté des échecs d'implantation (EI) répétés et inexpliqués, puis nous avons comparé ces données à celles obtenues dans une cohorte de femmes fertiles [11]. Pour typer le profil immunologique, nous avons quantifié la mobilisation des cellules uNK par immunohistochimie (anti-CD56+) et l'expression des ARN messagers endométriaux de l'interleukine (IL) 15, 18 et du système immunorégulateurs TWEAK/Fn-14. L'IL-15 est la cytokine à l'origine du recrutement et de la maturation

des cellules uNK en fenêtre implantatoire [12] et le système IL-18 est relié au processus angiogénique tout en informant de l'équilibre Th-1/Th-2 local. L'IL-18 est en effet une cytokine bivalente, c'est-à-dire indispensable à faible dose du fait de son action positive Th-2 stimulant l'angiogenèse locale et la déstabilisation des artères spiralées, mais délétère en excès car devenant Th-1 cytotoxique et pro-apoptotique [13]. Enfin, nous avons montré que l'activation effective des cellules uNK était dépendante de systèmes locaux immunorégulateurs des balances cytokiniques (représentés ici par le système TWEAK/Fn-14) nécessitant leur prise en compte dans l'établissement des profils utérins [14].

Quatre-vingt-cinq pour cent des patientes en EI présentaient une dérégulations de leurs profils immunologiques utérins, 60 % à type de sur-activation, 25 % à type de sous-activation. La personnalisation du soin, fondée soit sur le contrôle de la sur-activation, soit sur la stimulation endométriale en cas de sous-activation, a permis l'obtention de 40 % de naissances vivantes chez les patientes dérégulées [11]. Un essai prospectif randomisé, contrôlé chez 400 patientes en début de FIV (NCT02262117–PRECONCEPTIO) commence afin de vérifier ou non l'hypothèse d'une possible augmentation de 75 à 100 % des naissances vivantes par une adaptation de nos traitements en fonction du profil endométrial des patientes.

Implantation améliorable par une meilleure synchronisation entre embryon et endomètre

Les études transcriptomiques de l'endomètre en fenêtre implantatoire suggèrent qu'un certain nombre de transferts échoue car l'endomètre n'est pas prêt ou n'est plus prêt à recevoir l'embryon [15, 16]. La stratégie proposée est alors de déterminer avec précision la période exacte de réceptivité utérine optimale sur la base d'une analyse transcriptomique (ERA test ou WIN-test) sur *cycle test*, afin de décaler potentiellement le transfert en cas de décalage pour potentialiser l'implantation [15, 16].

Ainsi l'équipe de C. Simon ayant développé l'ERA test *(endometrial receptive array)* rapporte dans ces résultats préliminaires que 25 % des femmes en échec d'implantation présentent un décalage de l'ouverture ou de la fermeture de leur fenêtre d'implantation nécessitant un transfert personnalisé plus précoce ou tardif selon le cas [17]. Une étude de cohorte randomisée est en cours (NCT01954758) afin de démontrer l'éventuel bénéfice d'un transfert personnalisé sur le taux de naissances vivantes. Dans le même esprit, certaines études transcriptomiques suggèrent l'effet délétère de la stimulation ovarienne sur l'état de réceptivité endométriale. Ainsi de nouvelles stratégies visent à vitrifier la cohorte embryonnaire pour transférer les embryons après décongélation sur un cycle naturel où la préparation endométriale permettrait une meilleure synchronisation endomètre–embryon et donc une potentialisation de l'implantation.

Implantation améliorable : l'endomètre est un bio-senseur de l'embryon

De manière récente, il a été démontré chez l'animal puis chez l'humain que l'endomètre était capable de discriminer entre deux embryons celui avec ou sans potentialité d'implantation et réagir en conséquence pour aider ou pas l'embryon à s'implanter [18]. Les mêmes auteurs ont ensuite démontré que les patientes présentant des fausses couches à répétition n'avaient plus le mécanisme endométrial permettant cette discrimination et présentaient donc des intervalles plus courts de conception car tous les embryons (même anormaux) arrivant dans la cavité utérine s'implantaient [19].

Dès lors, rétablir le système de discrimination endométrial deviendrait un mécanisme à part entière pour potentialiser et aider les embryons ayant une potentialité d'implantation.

Conclusion

Améliorer le potentiel de réceptivité utérine en corrigeant des dérégulations immunitaires présentes et/ou en optimisant la synchronisation de celui-ci avec l'embryon pré-implantatoire est

sans doute à l'heure actuelle la démarche la plus prometteuse pour améliorer le succès des techniques d'assistance médicale à la procréation, avec l'espoir de doubler les taux d'implantation. Seules des études randomisées et contrôlées permettront dans l'avenir de vérifier ces hypothèses.

Références

[1] Psychoyos A. From Lataste to the "window of implantation" : 100 years of fascinating discoveries. Contracept Fertil Sex 1993 ; 21 : 333–8.
[2] Aplin JD. The cell biological basis of human implantation. Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2000 ; 14 : 757–64.
[3] Acosta AA, Elberger L, Borghi M, et al. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. Fertil Steril 2000 ; 73 : 788–98.
[4] Loke YW, King A, Burrows TD. Decidua in human implantation. Hum Reprod 1995 ; 10 : 14–21.
[5] Koopman LA, Kopcow HD, Rybalov B, et al. Human decidual natural killer cells are a unique NK cell subset with immunomodulatory potential. J Exp Med 2003 ; 198 : 1201–12.
[6] Manaster I, Mandelboim O. The unique properties of uterine NK cells. Am J Reprod Immunol 2010 ; 63 : 434–44.
[7] Manaster I, Mizrahi S, Goldman-Wohl D, et al. Endometrial NK cells are special immature cells that await pregnancy. J Immunol 2008 ; 181 : 1869–76.
[8] Chaouat G. The Th1/Th2 paradigm : still important in pregnancy ? Semin Immunopathol 2007 ; 29 : 95–113.
[9] Chaouat G, Petitbarat M, Dubanchet S, et al. Tolerance to the foetal allograft ? Am J Reprod Immunol 2010 ; 63 : 624–36.
[10] Ledee N, Petitbarat M, Rahmati M, et al. New preconception immune biomarkers for clinical practice : interleukin-18, interleukin-15 and TWEAK on the endometrial side, G-CSF on the follicular side. J Reprod Immunol 2011 ; 88 : 118–23.
[11] Lédée N, Petitbarat M, Vitoux D, et al. A New innovative method to increase live birth rate in case of previous unexplained repeated embryo implantation failure after in vitro fertilization. Plos One 2015. in revision.
[12] Kitaya K, Yamaguchi T, Honjo H. Central role of interleukin-15 in postovulatory recruitment of peripheral blood CD16(-) natural killer cells into human endometrium. J Clin Endocrinol Metab 2005 ; 90 : 2932–40.
[13] Croy BA, Esadeg S, Chantakru S, et al. Update on pathways regulating the activation of uterine Natural Killer cells, their interactions with decidual spiral arteries and homing of their precursors to the uterus. J Reprod Immunol 2003 ; 59 : 175–91.
[14] Petitbarat M, Rahmati M, Serazin V, et al. TWEAK appears as a modulator of endometrial IL-18 related cytotoxic activity of uterine natural killers. PLoS One 2011 ; 6. e14497.
[15] Blesa D, Ruiz-Alonso M, Simón C. Clinical management of endometrial receptivity. Semin Reprod Med 2014 ; 32 : 410–3.
[16] Haouzi D, Dechaud H, Assou S, et al. Insights into human endometrial receptivity from transcriptomic and proteomic data. Reprod Biomed Online 2012 ; 24 : 23–34.
[17] Ruiz-Alonso M, Blesa D, Díaz-Gimeno P, et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. Fertil Steril 2013 ; 100 : 818–24.
[18] Macklon NS, Brosens JJ. The human endometrium as a sensor of embryo quality. Biol Reprod 2014 ; 91 : 98.
[19] Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. BMC Med 2013 ; 11 : 154.

Épigénome et infertilité masculine

Chapitre 47

X. Pollet-Villard, R. Lévy

L'infertilité touche environ un couple sur sept en âge de procréer et dans approximativement 50 % des cas, il existe un facteur causal masculin, seul ou associé à un facteur féminin [1]. L'andrologue est dans 30 à 80 % [2] des cas incapable de trouver la cause de cette infertilité masculine à l'issue du bilan étiologique standard. Elle est alors étiquetée comme idiopathique, quels que soient les résultats du spermogramme.

Devant une infertilité masculine sévère, il dispose cependant d'un outil thérapeutique efficace, l'*intracytoplasmic sperm injection* (ICSI). Cette technique consiste à injecter un spermatozoïde directement dans le cytoplasme d'un ovocyte mature pour assurer dans plus de 98 % des cas une fécondation totale ou partielle de la cohorte d'ovocytes obtenus après hyperstimulation ovarienne. Mais comme pour la fécondation *in vitro* (FIV) simple, l'obtention d'un embryon clivé ou même d'un blastocyste n'est pas synonyme de grossesse évolutive ou de naissance d'un enfant en bonne santé. Se pose alors la question de la cause de l'infertilité du patient, de la qualité de ses gamètes et de leur impact non pas sur le processus de fécondation en lui-même, mais sur la viabilité du conceptus.

Par ailleurs, même si le rapport bénéfice sur risques des techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP) s'avère en faveur de leur utilisation, elles ont été associées, pour l'ICSI, à une augmentation significative des malformations à la naissance [3] et pour l'AMP en général à une augmentation des pathologies de l'empreinte parentale telles que les syndromes d'Angelman, de Prader-Willi, de Wiedemann-Beckwith et de Silver-Russel [4].

Bien que très rares, les pathologies de l'empreinte parentale sont remarquables car elles mettent en cause des altérations non pas de la séquence des gènes impliqués, mais de marques épigénétiques apposées sur ces gènes lors de la gamétogenèse paternelle ou maternelle.

Plus généralement, l'épigénétique correspond à l'étude des modifications d'activité des gènes, ou phénotype, n'impliquant pas de changement dans leur séquence nucléotidique, ou génotype. Ces modifications impliquent classiquement des événements pouvant modifier la transcription d'un gène, comme la méthylation de l'ADN et les modifications post-traductionnelles des histones. Concernant ce dernier point, il est important de noter que plus de 85 % des histones sont remplacées par les protamines au cours de la spermiogenèse, permettant une extrême compaction de la molécule d'ADN et ainsi la protection du génome haploïde mâle. Ceci constitue en soi une réorganisation épigénétique majeure, d'autant plus que de façon physiologique chez l'homme, 5 à 15 % des histones ne sont pas remplacées par les protamines, et donc « retenues » dans le spermatozoïde humain mature. Ces histones présentent des marques épigénétiques acquises lors de la gamétogenèse qui pourraient alors être transmises à l'embryon.

Récemment, un autre mécanisme de régulation épigénétique de l'expression des gènes a été découvert. Il agit principalement à un niveau post-transcriptionel et implique des molécules d'ARN non codants, en particulier les micro-ARNs.

Bien que de rares variants génétiques puissent expliquer certains cas d'infertilité masculine idiopathique [2], de récentes découvertes

amènent à penser que des dérégulations de l'épigénome ou épimutations pourraient aussi être impliquées.

Méthylation de l'ADN

Les motifs de méthylation de l'ADN sont effacés et rétablis à chaque génération lors de la gamétogenèse et du développement embryonnaire précoce. Lors de la gamétogenèse, les cellules germinales primordiales subissent une vague de déméthylation intéressant l'ensemble du génome. Cet effacement des marques méthyl est suivi par une méthylation *de novo* de l'ADN lors des étapes ultérieures de la gamétogenèse. Certaines régions du génome, les DMR *(differentially methylated regions)* sont alors différentiellement méthylées selon le sexe de l'individu, constituant «l'empreinte parentale». Les profils de méthylation des DMR sont héritables, car ils échappent à la première vague de déméthylation qui survient après la fécondation lors du développement embryonnaire précoce. L'altération du profil de méthylation des gènes soumis à empreinte est donc particulièrement intéressante pour la qualité du conceptus.

Dans le cadre de l'infertilité masculine, une épimutation spermatique au niveau de DMR pourrait alors être transmise à la descendance. Une telle transmission a déjà été décrite et pourrait être plus fréquente lorsque certains variants d'un gène codant pour une enzyme impliquée dans la méthylation *de novo* sont présents [5].

Plusieurs études ont montré une association significative entre infertilité masculine idiopathique et des anomalies de la méthylation de l'ADN des spermatozoïdes situées au niveau de régions soumises à l'empreinte parentale. Ces études ont fait l'objet d'une méta-analyse très récente s'intéressant particulièrement aux anomalies de méthylation retrouvées au niveau de deux gènes, l'un soumis à l'empreinte paternelle *H19*, et l'autre soumis à l'empreinte maternelle *MEST* [6]. L'odds ratio d'être infertile était 14,62 fois plus important en cas d'anomalie de méthylation de *H19* (intervalle de confiance ou IC95 % : 7,34–29,12, $p < 0,0001$) et 3,4 fois plus important en cas d'anomalie de la méthylation de *MEST* (IC95 % : 1,98–5,84, $p < 0,0001$).

Les patients inclus dans les études intégrées à cette méta-analyse présentaient principalement une diminution de la numération spermatique, bien qu'une diminution de la mobilité et du pourcentage de spermatozoïdes de formes typiques ait pu aussi être observée en association avec une altération de méthylation du gène *MEST*.

Il est donc significativement plus probable pour les patients souffrant d'infertilité idiopathique de présenter des altérations de la méthylation de l'ADN des spermatozoïdes au niveau de ces deux gènes soumis à empreinte.

Des anomalies de méthylation de gènes non soumis à empreinte ont aussi été associées à des altérations des paramètres spermatiques. Certaines des altérations décrites concernent des gènes ayant un rôle dans la spermatogenèse et la spermiogenèse.

C'est par exemple le cas du gène *CREM (c-AMP Responsive Element Modulator)*, un facteur de transcription dont l'hyperméthylation au niveau de son promoteur a été significativement associée à une diminution de la numération, de la mobilité et de la morphologie des spermatozoïdes, ainsi qu'à des altérations de la protamination du noyau spermatique [7].

Le gène *MTHFR (Methyl TetraHydroFolate Réductase)*, impliqué dans le métabolisme des folates, la synthèse de l'ADN et les processus de méthylation de l'ADN et des histones, a lui aussi été étudié. Une hyperméthylation de son promoteur a été associée à des cas d'azoospermie non obstructive idiopathique, ainsi qu'à des cas d'oligospermie ou de patients normospermes infertiles dans deux études cas-témoins [8, 9].

Une augmentation de la méthylation du promoteur du gène *DAZL (Deleted in azoospermia-like)*, un gène crucial pour le bon déroulement de la spermatogenèse, est plus fréquemment retrouvée chez les patients infertiles présentant une oligo-asthéno-tératospermie (OATS) que chez des témoins normospermiques [10].

D'autres auteurs ont analysé les altérations de la méthylation de l'ADN des spermatozoïdes en utilisant des technologies d'analyse à haut débit. Ils ont pu montrer que les altérations des paramètres spermatiques étaient corrélées à une hyperméthylation de plusieurs régions du génome de fonctions différentes [11]. Ils ont alors émis l'hypothèse qu'un défaut des mécanismes d'effacement de la

méthylation dans les cellules germinales primordiales pouvait être impliqué dans l'infertilité masculine.

L'impact des altérations de la méthylation sur la qualité du conceptus a également été évalué.

Une équipe française a démontré en utilisant une méthode d'immunomarquage de l'ADN méthylé par cytométrie en flux que le niveau de méthylation de l'ADN spermatique était positivement corrélé aux taux de grossesses cliniques en assistance médicale à la procréation (AMP), mais pas au taux de fécondations ni à la qualité embryonnaire [12].

Le degré de méthylation au niveau de séquences répétées du génome, les séquences ALU, a été aussi significativement positivement corrélé avec les taux de grossesses et de naissances vivantse, et négativement corrélé avec le taux de fausses couches [13].

L'hyperméthylation du promoteur du gène *MTHFR* serait aussi plus fréquente dans les spermatozoïdes des hommes partenaires de couples présentant des fausses couches spontanées à répétition idiopathiques [14]. Il en va de même pour l'hypométhylation de la région de contrôle de l'empreinte du gène *H19* [15], mais pas pour les autres régions soumises à empreintes analysées, en particulier *MEST* [16].

Remplacement des histones par les protamines au cours de la spermiogenèse

Durant la spermiogenèse, approximativement 85 % des histones sont remplacées par les protamines. Ce sont de petites protéines basiques reliées entre elles par des ponts disulfures permettant le plus haut niveau de compaction de la molécule d'ADN chez les mammifères. Il existe chez l'homme deux isoformes de protamines, P1 et P2, présents dans un ratio de 1:1 dans le noyau spermatique. Les conséquences des anomalies de protamination du noyau spermatique sur la fertilité humaine ont été revues récemment [17]. Bien que les mécanismes à l'origine des anomalies de protamination n'aient pas été encore élucidés, des anomalies de l'expression des protamines et/ou des mécanismes de remplacement des histones par les protamines ont été décrits.

Des altérations du ratio P1/P2 et/ou des diminutions des niveaux d'expression de P2 ont été retrouvées chez des hommes infertiles. Les anomalies mises en évidence comprenaient une diminution de la numération, de la mobilité et de la morphologie des spermatozoïdes, mais aussi une augmentation des anomalies de méthylation au niveau de gènes soumis à l'empreinte. Il existerait donc potentiellement un lien entre altérations de la méthylation et de la protamination.

Une protamination anormale du noyau spermatique a de plus été associée à : une augmentation de la fragmentation de l'ADN, une diminution des capacités fécondantes ainsi qu'une diminution des taux de grossesses.

Persistance d'histones dans le noyau du spermatozoïde humain mature

Approximativement 5 à 15 % des histones contenues dans le noyau du spermatozoïde humain ne sont pas remplacées par des protamines. Ces histones dites persistantes conservent des modifications post-traductionnelles telles que l'acétylation ou la méthylation [18]. Ces modifications constituent des marques épigénétiques, dans le sens où elles peuvent être reconnues spécifiquement par des protéines ou complexes de protéine régulant l'état de la chromatine et l'expression des gènes qui y sont associés.

Les régions d'ADN «retenant» les histones somatiques sont enrichies en promoteurs de gènes impliqués dans le développement embryonnaire, en cluster de gènes soumis à empreinte, en facteurs de transcription et en gènes codant pour des micro-ARNs [19]. La persistance de ces histones ne se fait donc pas au hasard dans le génome haploïde, mais permettrait de «préparer» des régions fonctionnellement importantes pour le développement embryonnaire à leur activation transcriptionnelle future dans l'embryon. Cette «préparation» impliquerait des modifications post-traductionnelles des histones dites «bivalentes» car associant des modifications activatrices et inhibitrices au niveau des promoteurs des gènes concernés, telles que respectivement la triméthylation des résidus lysine en position 4 (H3K4me3) et en position 27 (H3K27me3) de l'histone H3.

De plus, les histones retenues sont fortement acétylées, une caractéristique rencontrée au niveau de régions transcriptionellement actives, ce qui n'est pas le cas dans le spermatozoïde humain. Cette hyperacétylation pourrait participer à l'expression correcte de gènes paternels après la fécondation.

Des altérations de la quantité et des modifications des histones retenues dans le noyau spermatique ont ainsi été associées à des altérations de la qualité des embryons obtenus en AMP chez l'homme.

Une première équipe [20] a montré que chez des patients infertiles, le non-remplacement des histones par les protamines se faisait de façon aléatoire, contrairement aux contrôles fertiles. Cependant, la localisation sur le génome des histones modifiées restait comparable aux patients fertiles. Le changement principal observé était la diminution significative des histones marquées de façon bivalente entre les patients infertiles et les contrôles au niveau de gènes impliqués dans le développement embryonnaire, ainsi que des altérations de la méthylation des histones au niveau de régions soumises à l'empreinte. De façon intéressante, ces altérations ne semblaient pas influer sur le degré de méthylation de l'ADN empaqueté dans les histones retenues. Bien que les conséquences cliniques de ces altérations ne soient pas connues, certains patients dans cette étude présentaient un arrêt précoce du développement embryonnaire pré-implantatoire en AMP.

Récemment, il a été démontré que les profils d'acétylation de la lysine en position 12 de l'histone H4 (H4K12ac), impliquée dans la décondensation du génome paternel post-fécondation, étaient différents au niveau de certains promoteurs impliqués dans le développement embryonnaire entre des hommes infertiles et des donneurs fertiles [21]. Comme pour l'étude précédente, ces modifications n'étaient pas associées avec des altérations de la méthylation de l'ADN des régions concernées.

ARN non codants et infertilité masculine

Si le rôle des longs ARNs non codants (>200 nucléotides) dans le spermatozoïde humain n'a pas été élucidé, la présence de petits ARNs non codants a été reliée à l'infertilité masculine.

Les petits ARNs étudiés rentrent dans deux catégories, ceux interagissant avec les protéines PIWI ou piwi-ARNs, et les micro-ARNs.

Les piwi-ARNs (de 26 à 30 nucléotides) semblent impliqués dans la méthylation *de novo* de séquences d'ADN appelées transposons et auraient un rôle important dans l'élimination des ARNm lors des derniers stages de la spermiogenèse. Chez l'homme, des variants génétiques des protéines associées aux piwi-ARNs ont été reliés à des altérations des paramètres spermatiques, en particulier à l'oligospermie [22].

Les micro-ARNs (de 19 à 21 nucléotides) sont impliqués principalement dans des phénomènes d'inhibition post-transcriptionnelle de l'expression des gènes. Par un mécanisme de complémentarité de séquence, ces petits ARNs permettent la reconnaissance des régions 3′ non traduites des molécules d'ARN messager (ARNm) cibles par un complexe protéique effecteur entraînant la répression de la traduction de l'ARNm, soit par clivage de celui-ci, soit par inhibition de sa traduction. Les micro-ARNs ont été impliqués dans le développement testiculaire et la spermatogenèse dans des modèles animaux.

Des polymorphismes des gènes codant pour des enzymes clés de la voie des micro-ARNs ont été associés à des altérations des paramètres spermatiques, en particulier l'oligospermie [23]. L'expression d'un micro-ARN épididymaire dans les spermatozoïdes, miR-27b, a été associée à la mobilité des spermatozoïdes et pourrait être impliquée dans les asthénospermies et les tératospermies idiopathiques [24].

Une autre équipe a montré récemment que l'analyse de l'expression de cinq micro-ARNs dans les spermatozoïdes permettait d'identifier des patients présentant une infertilité idiopathique [25].

Les modifications de l'expression des micro-ARNs spermatiques pourraient donc être le reflet d'altérations de la spermatogenèse ou des mécanismes de maturation post-testiculaire des spermatozoïdes. Ces petits ARNs semblent être de nouveaux biomarqueurs intéressants de l'infertilité masculine, mais n'ont pas encore été reliés à des altérations du développement embryonnaire.

Conclusions et perspectives

L'épigénome du spermatozoïde humain mature est le reflet d'événements passés lors de la spermatoge-

nèse et de la spermiogenèse. Des épimutations ont été reliées à des altérations des paramètres spermatiques et à l'infertilité masculine chez l'humain et pourraient influencer la qualité et le développement du conceptus. Ces épimutations concernent plusieurs mécanismes de régulation épigénétiques de l'expression des gènes potentiellement reliés entre eux mais volontairement séparés dans ce chapitre pour une meilleure compréhension. Se pose la question des conséquences de ce type d'infertilité sur la qualité du conceptus. Les pathologies de l'empreinte ayant été décrites comme plus fréquentes chez les enfants conçus par AMP, les premiers soupçons se sont portés sur le risque lié à la manipulation de gamètes ou d'embryons en période de remaniement épigénétique majeure. Il semblerait aujourd'hui que l'infertilité en elle-même pourrait être impliquée dans ce type de pathologie [26] et que l'AMP faciliterait alors leur apparition en permettant aux couples infertiles de procréer.

L'apparition de méthodes d'analyse de l'épigénome spermatique en routine dans de grands essais cliniques pourra permettre de mieux expliquer les causes d'infertilité masculine jusqu'ici non identifiées et d'évaluer leur impact sur la descendance. Le développement de techniques de détection de spermatozoïdes porteurs d'épimutations « à risque » fait actuellement l'objet de recherches et pourrait dans un futur proche permettre d'exclure ces spermatozoïdes anormaux au cours des techniques d'AMP.

Références

[1] Thonneau P, Marchand S, Tallec A, et al. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988–1989). Hum Reprod 1991 ; 6 : 811–6.

[2] Hotaling J, Carrell DT. Clinical genetic testing for male factor infertility : current applications and future directions. Andrology 2014 ; 2 : 339–50.

[3] Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, et al. Reproductive technologies and the risk of birth defects. N Engl J Med 2012 ; 366 : 1803–13.

[4] Gosden R, Trasler J, Lucifero D, Faddy M. Rare congenital disorders, imprinted genes, and assisted reproductive technology. Lancet 2003 ; 361 : 1975–7.

[5] Kobayashi H, Hiura H, John RM, et al. DNA methylation errors at imprinted loci after assisted conception originate in the parental sperm. European journal of human genetics. EJHG 2009 ; 17 : 1582–91.

[6] Klaver R, Gromoll J. Bringing epigenetics into the diagnostics of the andrology laboratory : challenges and perspectives. Asian J Androl 2014 ; 16 : 669–74.

[7] Nanassy L, Carrell DT. Abnormal methylation of the promoter of CREM is broadly associated with male factor infertility and poor sperm quality but is improved in sperm selected by density gradient centrifugation. Fertil Steril 2011 ; 95 : 2310–4.

[8] Khazamipour N, Noruzinia M, Fatehmanesh P, et al. MTHFR promoter hypermethylation in testicular biopsies of patients with non-obstructive azoospermia : the role of epigenetics in male infertility. Human Reproduction (Oxford, England) 2009 ; 24 : 2361–4.

[9] Wu W, Shen O, Qin Y, et al. Idiopathic male infertility is strongly associated with aberrant promoter methylation of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). PLoS One 2010 ; 5 : e13884.

[10] Navarro-Costa P, Nogueira P, Carvalho M, et al. Incorrect DNA methylation of the DAZL promoter CpG island associates with defective human sperm. Human Reproduction (Oxford, England) 2010 ; 25 : 2647–54.

[11] Houshdaran S, Cortessis VK, Siegmund K, et al. Widespread epigenetic abnormalities suggest a broad DNA methylation erasure defect in abnormal human sperm. PLoS One 2007 ; 2 : e1289.

[12] Benchaib M, Braun V, Ressnikof D, et al. Influence of global sperm DNA methylation on IVF results. Human Reproduction (Oxford, England) 2005 ; 20 : 768–73.

[13] El Hajj N, Zechner U, Schneider E, et al. Methylation status of imprinted genes and repetitive elements in sperm DNA from infertile males. Sex Dev 2011 ; 5 : 60–9.

[14] Rotondo JC, Bosi S, Bazzan E, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene promoter hypermethylation in semen samples of infertile couples correlates with recurrent spontaneous abortion. Human Reproduction (Oxford, England) 2012 ; 27 : 3632–8.

[15] Ankolkar M, Patil A, Warke H, et al. Methylation analysis of idiopathic recurrent spontaneous miscarriage cases reveals aberrant imprinting at H19 ICR in normozoospermic individuals. Fertil Steril 2012 ; 98 : 1186–92.

[16] Ankolkar M, Salvi V, Warke H, et al. Methylation status of imprinted genes DLK1-GTL2, MEST (PEG1), ZAC (PLAGL1), and LINE-1 elements in spermatozoa of normozoospermic men, unlike H19 imprinting control regions, is not associated with idiopathic recurrent spontaneous miscarriages. Fertil Steril 2013 ; 99 : 1668–73.

[17] Francis S, Yelumalai S, Jones C, Coward K. Aberrant protamine content in sperm and consequential implications for infertility treatment. Human Fertility (Cambridge, England) 2014 ; 17(2) : 80–9.

[18] Schagdarsurengin U, Paradowska A, Steger K. Analysing the sperm epigenome : roles in early embryogenesis and assisted reproduction. Nat Rev Urol 2012 ; 9 : 609–19.

[19] Hammoud SS, Nix DA, Zhang H, et al. Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. Nature 2009 ; 460 : 473–8.

[20] Hammoud SS, Nix DA, Hammoud AO, et al. Genome-wide analysis identifies changes in histone retention and epigenetic modifications at developmental and imprinted gene loci in the sperm of infertile men. Human Reproduction (Oxford, England) 2011 ; 26 : 2558–69.

[21] Vieweg M, Dvorakova-Hortova K, Dudkova B, et al. Methylation analysis of histone H4K12ac-associated promoters in sperm of healthy donors and subfertile patients. Clinical Epigenetics 2015 ; 7 : 31.

[22] Gu A, Ji G, Shi X, et al. Genetic variants in Piwi-interacting RNA pathway genes confer susceptibility to spermatogenic failure in a Chinese population. Hum Reprod 2010 ; 25 : 2955–61.

[23] Qin Y, Xia Y, Wu W, et al. Genetic variants in microRNA biogenesis pathway genes are associated with semen quality in a Han-Chinese population. Reprod Biomed Online 2012 ; 24 : 454–61.

[24] Zhou JH, Zhou QZ, Lyu XM, et al. The expression of cysteine-rich secretory protein 2 (CRISP2) and its specific regulator miR-27b in the spermatozoa of patients with asthenozoospermia. Biol Reprod 2015 ; 92 : 28.

[25] Abu-Halima M, Hammadeh M, Backes C, et al. Panel of five microRNAs as potential biomarkers for the diagnosis and assessment of male infertility. Fertil Steril 2014 ; 102 : 989–97. e1.

[26] Uyar A, Seli E. The impact of assisted reproductive technologies on genomic imprinting and imprinting disorders. Current Opin Obstet Gynecol 2014 ; 26 : 210–21.

Les innovations dans le domaine de l'assistance médicale à la procréation : apport des techniques Omics

Chapitre 48

D. Haouzi, E. Scalici, S. Hamamah

Malgré de nombreuses avancées en assistance médicale à la procréation (AMP), seuls 10 à 15 % des embryons replacés donnent naissance à un enfant. Une partie des échecs est directement imputable à l'embryon lui-même, mais le facteur limitant majoritaire est l'échec d'implantation, souvent associé à des désynchronisations de dialogue entre le tissu embryonnaire et le tissu maternel. Au cours de cette dernière décennie, les techniques Omics (techniques à haut débit) ont largement été exploitées dans le domaine de la fertilité. Notamment, l'étude des acides nucléiques circulants (micro-ARNs, ADN libre) a fait l'objet d'importantes avancées scientifiques et médicales. En effet, ils occupent à l'heure actuelle une place primordiale en tant que biomarqueurs d'intérêt en pathologie humaine, en particulier en cancérologie. Facilement accessibles dans les fluides biologiques ou dans le milieu de culture embryonnaire, ils représentent des outils de choix en AMP pour le développement de nouveaux tests noninvasifs diagnostiques et pronostiques. L'utilisation de ces biomarqueurs, à la fois dans l'évaluation de la réserve ovarienne, dans l'appréciation de la qualité embryonnaire et dans la prévention des échecs d'implantation, correspond à une approche innovante et extrêmement prometteuse dans le domaine. Par ailleurs, les techniques Omics ont permis des avancées majeures dans l'identification de biomarqueurs de la réceptivité endométriale, mettant en place par conséquent des tests d'appréciation de la réceptivité endométriale. L'utilisation de ces technologies comme outils moléculaires a aussi permis de mieux comprendre l'impact des protocoles de stimulation ovarienne au cours d'une tentative de fécondation *in vitro* (FIV)/*intracytoplasmicsperm injection* (ICSI) sur la réceptivité endométriale incitant ainsi les praticiens à revisiter leurs pratiques.

Approches innovantes de sélection des embryons compétents

À l'heure actuelle, la sélection des embryons repose sur l'établissement de scores morphocinétiques dont l'utilisation exclusive montre aujourd'hui ses limites [1]. L'évaluation de la qualité embryonnaire de plus haute valeur prédictive revêt donc une importance capitale en vue d'augmenter les taux de grossesses et d'étendre la politique du transfert d'embryon unique, seul rempart contre la mortalité et la morbidité associées aux grossesses gémellaires. Dans cet objectif, de nombreuses études s'intéressent à l'identification de nouveaux biomarqueurs noninvasifs basés sur l'analyse du

microenvironnement ovocytaire et/ou embryonnaire afin d'améliorer l'exactitude de sélection embryonnaire. Ces études se focalisent préférentiellement sur l'analyse de composants du liquide folliculaire et du milieu de culture dans lequel se développe l'embryon *in vitro* [2–4]. L'objectif de ces études vise à corréler la présence ou l'absence de certaines molécules dans le liquide folliculaire ou dans le milieu de culture à la réussite ou l'échec de grossesse. À ce regard, l'analyse de l'expression des ARNm du G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor)*, facteur de croissance hématopoïétique spécifique de la lignée granulocytaire, dans le liquide folliculaire, semble être une piste extrêmement prometteuse [4]. En outre, un intérêt grandissant se porte sur les acides nucléiques circulants (micro-ARNs et ADN libre) comme potentiels nouveaux outils permettant la sélection des embryons compétents.

ADN libre circulant

Dans le domaine de l'AMP, la contribution de l'ADN libre circulant dans l'appréciation de la qualité ovocytaire et/ou embryonnaire commence à voir le jour [5, 6]. Une étude récente démontre des corrélations respectivement entre le taux d'ADN libre circulant dans le liquide folliculaire prélevé le jour de la ponction des ovocytes et la taille des follicules, la qualité des embryons âgés de 3 jours, ainsi que le taux de fragmentation [6].

De façon similaire, une étude récente a largement démontré l'intérêt du dosage d'ADN libre dans le milieu de culture embryonnaire. En effet, le contenu en ADN libre nucléaire et mitochondrial du milieu serait significativement associé au taux de fragmentation des embryons âgés de 3 jours [7]. Plus précisément, le ratio du contenu en ADN libre nucléaire sur l'ADN libre mitochondrial dans le milieu de culture des embryons âgés de 3 jours est corrélé au taux de blastulation, à la qualité embryonnaire des blastocystes et au taux d'implantation [8]. Par ailleurs, sous traitement de stimulation ovarienne, il semble que le taux d'ADN libre circulant plasmatique soit inversement corrélé au taux de grossesses de patientes prises en charge en FIV.

Micro-ARNs circulants

Les micro-ARNs (miARNs) sont des petits ARNs non codants d'environ 22 nucléotides. Ce sont des régulateurs post-transcriptionnels capables d'extinction de l'expression d'un gène. De nombreuses études se sont intéressées à la présence des micro-ARNs dans le follicule ovarien chez les mammifères. Ceux-ci sont impliqués dans la régulation de plusieurs processus biologiques au sein du follicule, tels que la prolifération, l'apoptose des cellules folliculaires, la production d'hormones stéroïdiennes ou encore la maturation ovocytaire. Ainsi, plusieurs études rapportent que l'expression des micro-ARNs circulants varie dans certaines pathologies responsables d'infertilité féminine, telles que l'endométriose, le syndrome des ovaires micropolykystiques (SOMPK) et l'insuffisance ovarienne prématurée [5]. Enfin, des micro-ARNs ont été identifiés dans le milieu de culture des embryons pré-implantatoires avec une expression forte du miR-302C dans le milieu de culture de blastocystes humains [9]. D'une façon générale, les résultats suggèrent fortement que certains micro-ARNs circulants pourraient constituer de véritables biomarqueurs présents dans le milieu de culture de l'embryon ou sériques spécifiques pour la sélection des embryons compétents ainsi que pour le diagnostic de pathologies liées à l'infertilité et, en particuliers, pour la détection d'anomalies de la réserve ovarienne (figure 48.1).

Approches innovantes d'appréciation de la réceptivité endométriale

Si de nombreux progrès ont été réalisés ces dernières années dans certains domaines de la médecine de la reproduction, de larges zones d'ombre persistent sur la compréhension du processus implantatoire en lui-même. La complexité de ce processus réside dans le fait qu'il soit multifactoriel. En effet, trois conditions sont nécessaires au succès d'implantation. Il faut un embryon compétent, un endomètre

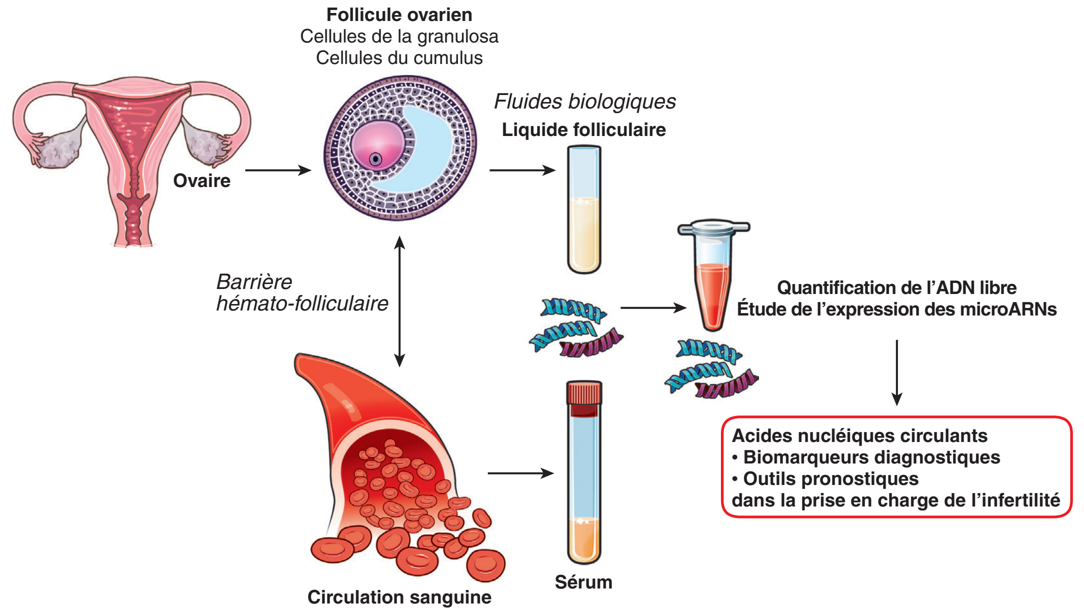


Figure 48.1 Intérêt des acides nucléiques circulants comme biomarqueurs diagnostiques et/ou pronostiques en fertilité.

réceptif et un dialogue synchronisé entre le stade de maturité de l'endomètre et celui de l'embryon. L'endomètre est réceptif, c'est-à-dire prêt à recevoir un embryon pendant une petite période estimée d'une durée d'environ 4 jours, située pendant la phase sécrétoire du cycle menstruel du jour 20 au jour 24 (donc de LH+7 à LH+11) et appelée « fenêtre d'implantation ». L'avènement des technologies Omics, en particulier le transcriptome et le protéome, a permis l'obtention d'une image cohésive des mécanismes biologiques et des sentiers signalétiques permettant l'acquisition du phénotype de la réceptivité endométriale.

Profil transcriptomique de la réceptivité de l'endomètre

La transformation d'un endomètre non réceptif au cours de la phase sécrétoire précoce en endomètre réceptif au cours de la mi-phase sécrétoire implique d'importantes modifications d'expression des ARNm. Les annotations fonctionnelles des gènes différentiellement exprimés dans l'endomètre réceptif de ces études sont rapportées dans le tableau 48.1. Notamment, d'importantes modifications des systèmes d'adhésion cellulaire et du remodelage de la matrice extracellulaire ont été identifiées, facilitant probablement l'apposition, l'adhésion puis l'invasion trophoblastique, étapes primordiales de l'implantation. Les facteurs de croissance, les cytokines et les chémokines sont aussi des groupes fonctionnels majoritairement rapportés [10]. Cependant, des analyses plus poussées, en termes de localisation spatio-temporelle et de la(des) fonction(s) du(des) produit(s) de ces gènes restent indispensables à la compréhension de la cascade de régulation de la réceptivité endométriale.

Leur valeur prédictive dans la prévision du résultat de grossesse doit maintenant être évaluée dans une large cohorte de patientes.

Profil protéomique de la réceptivité de l'endomètre

Peu d'études ont appliqué des approches protéiques à grande échelle dans l'étude de la réceptivité de l'endomètre [10].

Tableau 48.1 Études transcriptomiques de la réceptivité de l'endomètre*.

Études	Nombre de gènes		Annotations fonctionnelles	
	Sur-exprimés	Sous-exprimés	Processus biologiques	Voies de signalisation
Carson, *et al.* (2002)	323	370	Protéines de surface cellulaire, composants de la matrice extracellulaire, facteurs de croissance, cytokines, protéines de liaison à l'ADN, facteurs de transcription	Voie de signalisation du facteur fibroblastique de croissance FGF, signalisation Wnt dépendante
Riesewijk, *et al.* (2003)	153	58	Famille des immunomodulateurs, adhésion cellulaire, stress oxydatif, protéines du cytosquelette	Non exploré
Mirkin, *et al.* (2005)	49	58	Régulateurs du cycle cellulaire, protéines liant les ions, famille des immunomodulateurs, adhésion cellulaire, composants de la matrice extracellulaire, facteurs de croissance, cytokines	Non exploré
Talbi, *et al.* (2006)	1415	1463	Communication cellulaire, adhésion cellulaire, cascades de signalisation intracellulaire, régulateurs du cycle cellulaire, homéostasie ionique cellulaire, métabolisme et synthèse des acides aminés et acides organiques, réponse immune, réponse à des stimuli externes, facteurs de croissance et chemokines	Cascade de signalisation NFkB/IkB, signalisation IL-6, signalisation des récepteurs couplés aux protéines G, métabolisme des prostaglandines
Haouzi, *et al.* (2009)	945	67	Non exploré	Voie de signalisation TGF-β, cascade du complément et de la coagulation, migration leucocytaire transendothéliale
Diaz-Gimeno, *et al.* (2011)	74	60	Réponse immune, réponse au stress, réponse à des stimuli externes, régulateurs du cycle cellulaire, adhésion cellulaire, protéines du cytosquelette, signalisation intercellulaire	Non exploré

* Le nombre de gènes différentiellement exprimés entre les phases sécrétoires préréceptives et réceptives de l'endomètre est indiqué, ainsi que les annotations fonctionnelles rattachées à ces listes de gènes.

La comparaison des données transcriptomiques et protéomiques, comparant le profil d'expression endométrial pendant la transition des stades préréceptifs *versus* réceptifs, montre que seul un gène, l'annexine A4, est identifié dans la majorité des études transcriptomiques (dans cinq études parmi les six) et pour lequel on retrouve une corrélation entre les taux d'ARNm et de protéines (tableau 48.2) [10].

Identification de marqueurs de la réceptivité de l'endomètre et tests innovants

Dans le domaine de la fertilité, ces techniques globales de caractérisation de l'expression génique et protéique de la fenêtre d'implantation ont donc permis d'identifier des marqueurs de la réceptivité de l'endomètre. Toute la complexité mainte-

Tableau 48.2 Corrélation entre les taux d'ARNm et protéiques de l'endomètre au cours de la transition de l'endomètre sécrétoire pré-réceptif versus réceptif.

Nom	Études transcriptomiques						Études protéomiques	
	Carson, *et al.* (2002)	Riesewijk, *et al.* (2003)	Mirkin, *et al.* (2005)	Talbi, *et al.* (2006)	Haouzi, *et al.* (2009)	Diaz-Gimeno, *et al.* (2011)	Li, *et al.* (2006)	Dominguez, *et al.* (2009)
ANXA4		+ ↑	+ ↑	+ ↑	+ ↑	+ ↑	+ ↑	+ ↑
ANXA2		+ ↑	+ ↑	+ ↑				+ ↑
MAOA		+ ↑			+ ↑	+ ↑		+ ↑
TAGLN		+ ↑			+ ↑			+ ↑
LCP1			+ ↑	+ ↑				+ ↑
PGRMC1				+ ↓				+ ↓
STMN1			+ ↓					+ ↓
APOL2					+ ↑			+ ↑
ALDH1A3					+ ↑			+ ↑
S100A10					+ ↑			+ ↑

+ : présent dans l'étude ; ↑ : sur-exprimé ; ↓ : sous-exprimé.

nant réside dans la sélection du panel de candidats qui permettra la meilleure appréciation de la réceptivité endométriale. Ainsi, Haouzi *et al.* [11] ont exploité leur étude transcriptomique afin de sélectionner un panel de candidats dont les ARNm sont fortement sur-exprimés dans les endomètres réceptifs (LH+7) en comparaison à des endomètres pré-réceptifs (LH+2) sécrétoires. Au total, treize candidats ont été sélectionnés afin de mettre en place un test d'appréciation de la réceptivité endométriale par RT-PCR quantitative : le WIN-test *(window implantation test)*. Ce test permet de qualifier un échantillon endométrial prélevé pendant la fenêtre théorique d'implantation et ce, aussi bien en cycle naturel qu'en traitement hormonal de substitution (THS), de « réceptif », « partiellement réceptif » ou « non réceptif » (figure 48.2) [12].

Conclusions et perspectives

Les techniques Omics ont permis une avancée majeure dans le domaine de l'AMP en permettant l'identification de biomarqueurs de la réserve ovarienne, de la qualité embryonnaire, de la compétence embryonnaire ainsi que de la réceptivité endométriale. L'identification de tels biomarqueurs va permettre de révolutionner les pratiques et la prise en charge de patientes en AMP (stratégie du *freeze all*, transfert embryonnaire personnalisé). De nouveaux tests devraient donc bientôt voir le jour avec l'objectif d'améliorer les résultats de grossesse en AMP. Des études prospectives randomisées devraient permettre prochainement une meilleure visibilité de la pertinence de ces nouveaux tests innovants.

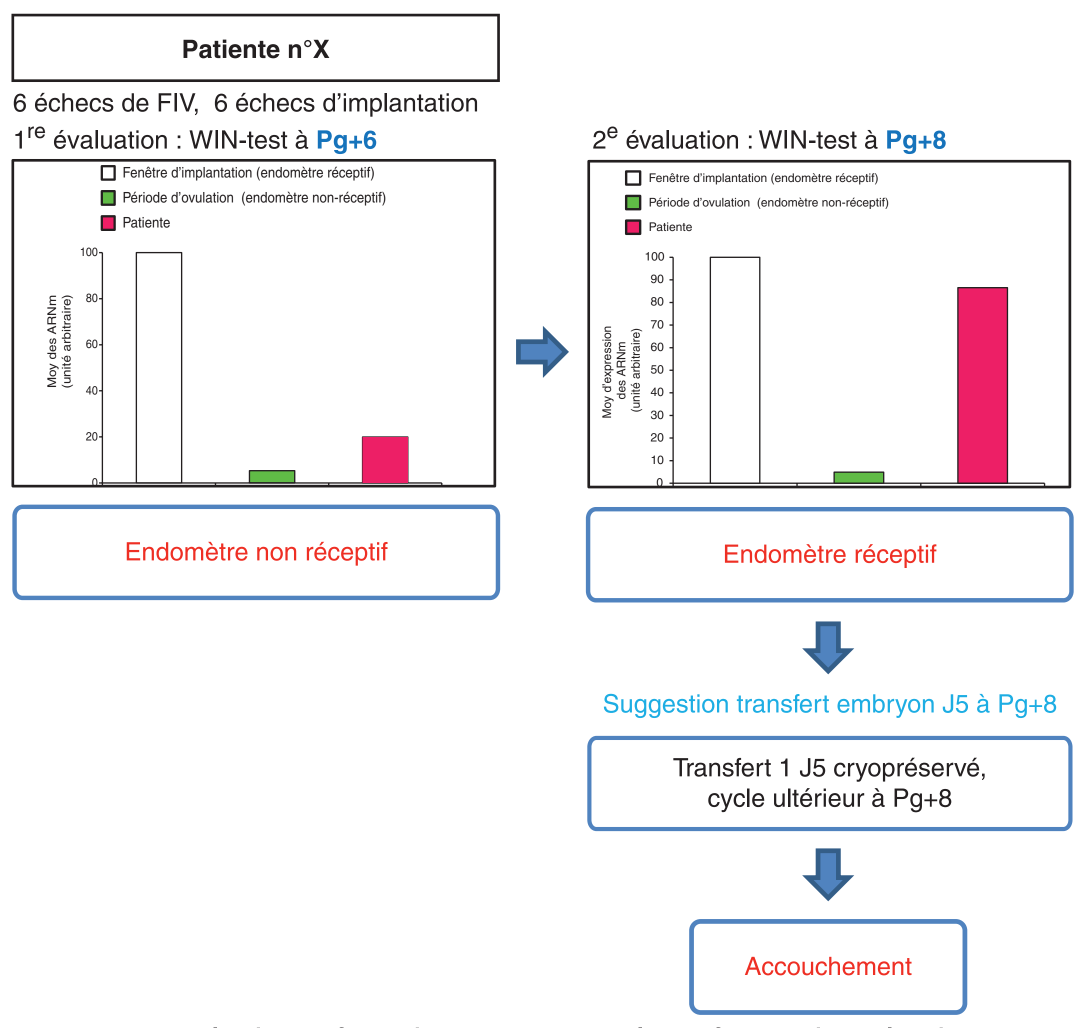


Figure 48.2 Exemples de transfert embryonnaire personnalisé en fonction du résultat du WIN-test.
Pg : progestérone.

Références

[1] Scalici E, Gala A, Ferrières A, et al. Does embryo morphology constitute a reliable criterion for embryo selection ? Gynecol Obstet Fertil 2014 ; 42 : 661–4.

[2] Revelli A, Delle Piane L, Casano S, et al. Follicular fluid content and oocyte quality : from single biochemical markers to metabolomics. Reprod Biol Endocrinol 2009 ; 7 : 40.

[3] Seli E, Vergouw CG, Morita H, et al. Noninvasive metabolomic profiling as an adjunct to morphology for noninvasive embryo assessment in women undergoing single embryo transfer. Fertil Steril 2010 ; 94 : 535–42.

[4] Lédée N, Gridelet V, Ravet S, et al. Impact of follicular G-CSF quantification on subsequent embryo transfer decisions : a proof of concept study. Hum Reprod 2013 ; 28 : 406–13.

[5] Traver S, Assou S, Scalici E, et al. Cell-free nucleic acids as non-invasive biomarkers of gynecological cancers, ovarian, endometrial and obstetric disorders and fetal aneuploidy. Hum Reprod Update 2014 ; 20 : 905–23.

[6] Scalici E, Traver S, Molinari N, et al. Cell-free DNA in human follicular fluid as a biomarker of embryo quality. Hum Reprod 2014 ; 29 : 2661–9.

[7] Stigliani S, Anserini P, Venturini PL, Scaruffi P. Mitochondrial DNA content in embryo culture medium is significantly associated with human embryo fragmentation. Hum Reprod 2013 ; 28 : 2652–60.

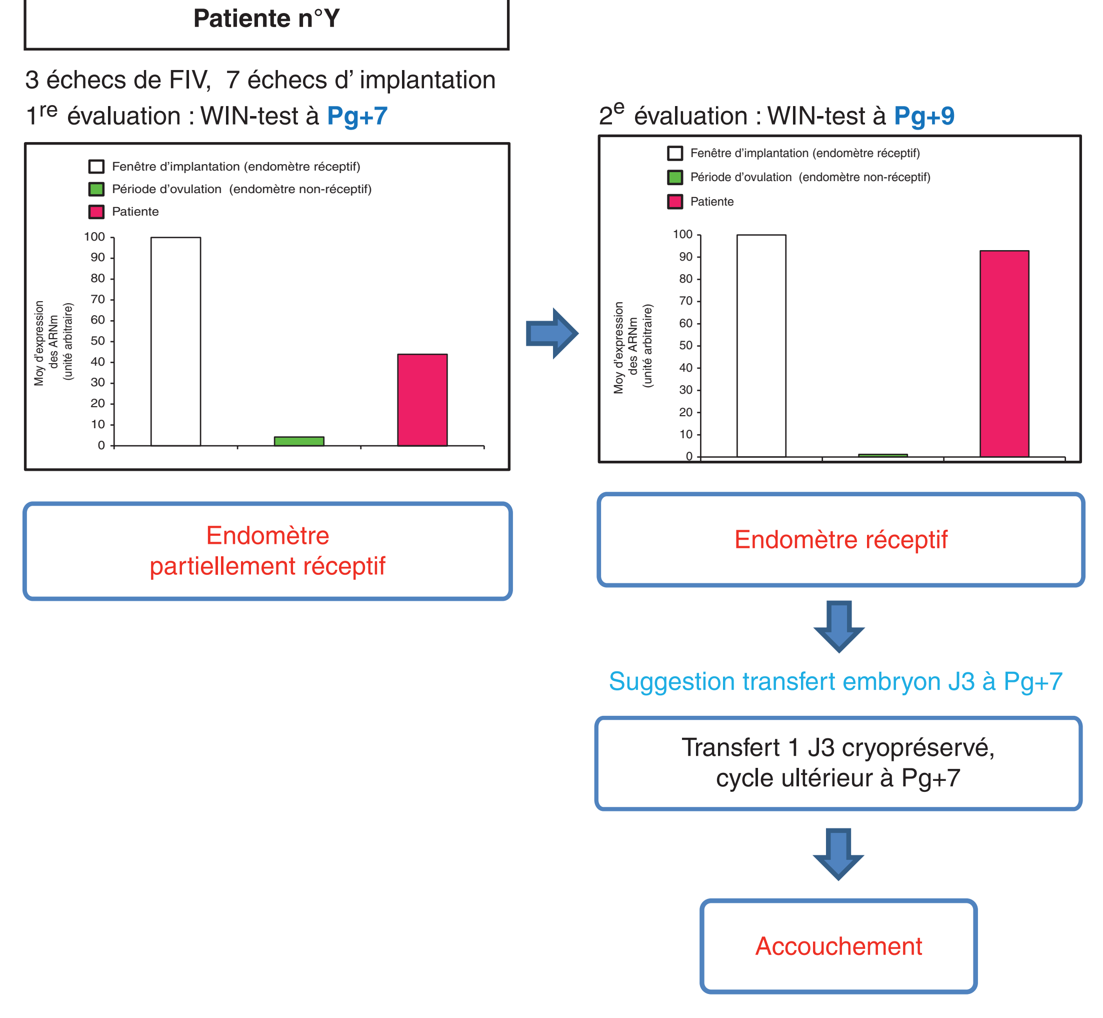


Figure 48.2 Suite.

[8] Stigliani S, Persico L, Lagazio C, et al. Mitochondrial DNA in Day 3 embryo culture medium is a novel, non-invasive biomarker of blastocyst potential and implantation outcome. Mol Hum Reprod 2014; 20 : 1238–46.

[9] Kropp J, Salih SM, Khatib H. Expression of microRNAs in bovine and human pre-implantation embryoculture media. Front Genet 2014; 5 : 91.

[10] Haouzi D, Dechaud H, Assou S, et al. Insights into human endometrial receptivity from transcriptomic and proteomic data. Reprod Biomed Online 2012; 24 : 23–34.

[11] Haouzi D, Mahmoud K, Fourar M, et al. Identification of new biomarkers of human endometrial receptivity in the natural cycle. Hum Reprod 2009; 24 : 198–205.

[12] Haouzi D, Bissonnette L, Gala A, et al. Endometrial receptivity profile in patients with premature progesterone elevation on the day of HCG administration. Biomed Res Int 2014; 2014 : 951937.